

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGIA



BIBLIOTECA U.C.M.



5308333078

**ESTUDIO LONGITUDINAL COMPARATIVO
CLINICO-HISTOLOGICO DE PACIENTES CON
PERIDONTITIS RAPIDAMENTE PROGRESIVA Y
PERIODONTITIS CRONICA DEL ADULTO.
ANALISIS INMUNOHISTOQUIMICO.**

JUAN BLANCO CARRION

Madrid, 1995



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGIA



BIBLIOTECA U.C.M.



5308333078

**ESTUDIO LONGITUDINAL COMPARATIVO
CLINICO-HISTOLOGICO DE PACIENTES CON
PERIDONTITIS RAPIDAMENTE PROGRESIVA Y
PERIODONTITIS CRONICA DEL ADULTO.
ANALISIS INMUNOHISTOQUIMICO.**

JUAN BLANCO CARRION

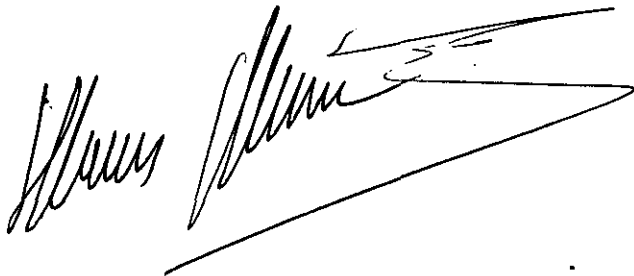
Madrid, 1995



FELIPE LLANES MENENDEZ, Profesor Titular de Anatomía Patológica de La Facultad de Medicina de La Universidad Complutense de Madrid.

HAGO CONSTAR:

que el Licenciado en Medicina y Cirugía, especialista en Estomatología, **D. Juan Blanco Carrión** ha realizado el presente trabajo de investigación bajo mi dirección. Una vez finalizado considero reúne las condiciones estipuladas para ser presentado como Memoria de Tesis Doctoral para optar al Grado de Doctor.

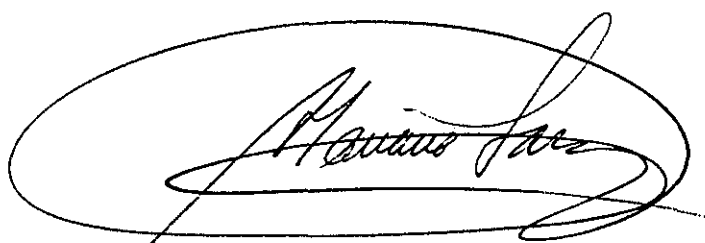
A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Felipe Llanes Menendez', with a long horizontal stroke extending to the right.

Madrid, 7 de Junio de 1995

MARIANO SANZ ALONSO, Profesor Titular de Periodoncia del Departamento de Medicina y Cirugía Bucofacial de La Facultad de Odontología de La Universidad Complutense de Madrid.

HAGO CONSTAR:

que el Licenciado en Medicina y Cirugía, especialista en Estomatología, **D. Juan Blanco Carrión** ha realizado el presente trabajo de investigación bajo mi dirección. Una vez finalizado considero reúne las condiciones estipuladas para ser presentado como Memoria de Tesis Doctoral para optar al Grado de Doctor.



Madrid, 7 de Junio de 1995

X-53 - 238199-7

AGRADECIMIENTOS

Al Prof. Dr. D. Mariano SANZ ALONSO, Profesor Titular del Departamento de Medicina Y Cirugía Bucofacial y Director de este trabajo, al que, además de agradecer desde un punto de vista científico y docente, tengo que hacerlo desde un punto de vista humano, ya que la culminación de esta tesis ha sido posible no sólo gracias a sus enseñanzas y orientaciones en el terreno científico, sino sobre todo al apoyo moral que me brindó en todo momento y a la confianza que siempre depositó en mí. Desde estas páginas muchas gracias.

Al Prof. Dr. D. Felipe LLANES MENENDEZ, Profesor Titular de Anatomía Patológica y Director de este trabajo, sin cuyo apoyo y consejo no podría haber realizado la investigación histopatológica.

Al Dr. D. Javier ALANDEZ CHAMORRO, Profesor del programa Master en Periodoncia, por su apoyo y asesoramiento generoso, desinteresado y afable siempre que lo he necesitado.

A la Dra. Berta LEGIDO ARCE, Profesora del programa Master en Periodoncia, por su amable, valiosa y siempre cariñosa colaboración desde el momento en que se inició el trabajo.

Al Prof. Dr. D. Antonio BASCONES MARTINEZ, por haberme permitido trabajar a su lado y al que admiro por su enorme espíritu de trabajo.

A mis amigos y compañeros, Bettina ALONSO, Amelia GUERRA BARRIENTOS, Margarita INIESTA ALBENTOSA, Luis FELIPE y Josefina HONTANILLA, por su amable y eficaz colaboración en la realización de esta investigación.

A mi amiga y compañera Helena REBELO, que se inició conmigo en estos lares de la investigación, y que colaboró de forma muy estrecha en los comienzos del trabajo.

A M^a del Carmen ROIZ SANTRON, por haberme soportado y solucionado todos los problemas administrativos siempre que lo he necesitado.

A Ana RODRIGUEZ ABAD, que sufrió y se sacrificó por mí para el procesamiento e impresión de esta tesis.

A las auxiliares de Anatomía Patológica por su imprescindible ayuda en el procesamineto de las muestras.

A mi mujer por no haberme permitido abandonar en los múltiples momentos bajos que he tenido a lo largo del tiempo de realización del trabajo.

"No hay nada imposible en el mundo, solo hay que descubrir los medios para conseguirlo".

Hermann Oberth

A mi mujer, a mis hijos y a mis padres.

1. INTRODUCCION.

1.1. CARACTERISTICAS DE SALUD Y ENFERMEDAD PERIODONTAL.

1.1.1. SALUD.

1.1.2. ENFERMEDAD PERIODONTAL.

1.2. CLASIFICACION DE LAS ENFERMEDADES PERIODONTALES.

1.2.1. GINGIVITIS.

1.2.2. PERIODONTITIS.

1.3. EVIDENCIA DE LA EXISTENCIA DE GRUPOS DE ALTO RIESGO PARA PADECER ENFERMEDAD PERIODONTAL.

1.4. PLACA BACTERIANA. FACTOR ETIOLOGICO PRINCIPAL.

1.4.1. FLORA ORAL.

1.4.2. FACTORES QUE INFLUYEN EN EL CRECIMIENTO BACTERIANO BUCAL.

1.4.2.1. ANAEROBIOSIS.

1.4.2.2. FUENTES NUTRITIVAS.

1.4.3. DESARROLLO Y SIGNIFICADO CLINICO.

1.4.4. MICROBIOLOGIA DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL.

1.4.4.1. TEORIAS ESPECIFICA Y NO ESPECIFICA.

1.4.4.2. CONCEPTOS ACTUALES. CRITERIOS QUE DEFINEN A UN PERIODONTOPATOGENO.

1.5. RESPUESTA DEL HUESPED.

1.5.1. INTRODUCCION AL SISTEMA INMUNE.

1.5.1.1. CARACTERISTICAS FUNDAMENTALES DEL SISTEMA INMUNE.

1.5.1.2. BASES CELULARES.

1.5.1.3. INTERACCIONES CELULARES EN LA RESPUESTA INMUNE.

1.5.1.4. AVANCES RECIENTES EN INMUNOBIOLOGIA

1.5.2. DEFENSA DEL HUESPED EN LA ENFERMEDAD PERIODONTAL.

1.5.2.1. FACTORES DE RIESGO RELACIONADOS CON LOS MECANISMOS DE DEFENSA DEL HUESPED.

1.5.3. RESPUESTA DEL HUESPED EN LA ENFERMEDAD PERIODONTAL.

1.5.3.1. RESPUESTA DE LA INMUNIDAD CELULAR.

1.5.3.2. PAPEL DE LAS INMUNOGLOBULINAS Y ANTICUERPOS.

1.5.3.3. IMPORTANCIA DE LAS CITOQUINAS Y MEDIADORES DE LA INFLAMACION.

1.5.3.4. SISTEMA DEL COMPLEMENTO Y ENFERMEDAD PERIODONTAL.

2. HIPOTESIS Y OBJETIVOS.

3. MATERIAL Y METODO.

3.1. POBLACION ESTUDIO.

3.2. PARAMETROS CLINICOS.

3.3. PARAMETROS HISTOPATOLOGICOS

3.3.1. TECNICAS CONVENCIONALES.

3.3.2. INMUNOHISTOQUIMICA.

3.4. DISEÑO EXPERIMENTAL.

3.5. ANALISIS DE LOS DATOS. ESTUDIO ESTADISTICO.

4. RESULTADOS.

4.1. RESULTADOS CLINICOS.

4.2. RESULTADOS HISTOLOGICOS.

4.2.1. TECNICAS CONVENCIONALES.

4.2.2. INMUNOHISTOQUIMICA.

5. DISCUSION.

5.1. PARAMETROS CLINICOS.

5.2. PARAMETROS HISTOLOGICOS.

5.2.1. TECNICAS CONVENCIONALES.

5.2.2. TECNICAS INMUNOHISTOQUIMICAS.

6. CONCLUSIONES.

7. BIBLIOGRAFIA.

1. INTRODUCCION

Durante un largo período de tiempo, casi todo el siglo XX, los profesionales consideraron que la enfermedad periodontal una vez iniciada en un individuo, evolucionaba lenta y progresivamente en el tiempo si no se trataba. Numerosos estudios epidemiológicos en los 60 y 70 prestaron soporte científico a este concepto relacionando de forma directa la edad con la severidad en la enfermedad periodontal (1-3). Así se dedujo, que con el tiempo un individuo sufriría continuamente la destrucción del aparato de inserción hasta la pérdida dentaria. No solo la gingivitis y la periodontitis eran vistos como un único proceso, sino que la pérdida de soporte era continua en el tiempo. Sin embargo durante esta época, los clínicos observaron en algunos pacientes con bolsas periodontales, que la pérdida ósea radiológica no tenía porque implicar necesariamente enfermedad periodontal activa de todos los dientes en ausencia de tratamiento. De igual manera pacientes en fase de mantenimiento, presentaban sin embargo episodios de pérdida de inserción en uno o más dientes que iban seguidos de fases de quietud. Estas observaciones sugirieron las primeras ideas acerca de la existencia de períodos de remisión y exacerbación en la progresión de la enfermedad; y la conclusión inicial fue que dicha entidad no era uniforme para todos los dientes en un paciente ni para todos los pacientes.

En los años 70 algunos autores empezaron a dudar del concepto de progresión continua de la enfermedad (4,5). En esta época los investigadores trabajan para buscar el germen responsable de la enfermedad y la respuesta del huésped. Así se dieron cuenta de que había que estudiar pacientes que estuvieran perdiendo inserción en ese momento, para poder relacionar esa fase de actividad clínica con la microbiología y la respuesta del huésped. Ya no creen en una relación causa-efecto entre el volumen de placa supragingival y la periodontitis destructiva. Socransky y col.(4) intentaron relacionar la flora predominante de un diente con el estado de enfermedad del diente en ese momento. Los cambios de nivel de inserción en el tiempo fue el parámetro utilizado para definir actividad o no en un diente. De esta manera la flora cultivable de ese diente podría identificarse con actividad (progresión de la enfermedad), remisión de la enfermedad, o con salud (4-7). Estos autores observaron que en sus pacientes la enfermedad periodontal evolucionaba en forma de brotes (fases de actividad y de quietud). Por otro lado la tasa de pérdida de inserción en algunos individuos era más rápida que el concepto de progresión lenta. En otros sin embargo, era todavía más lenta de lo que se podía esperar por la historia clínica y las radiografías previas (4-7).

Por todo ello se dedujo que la gingivitis no necesariamente terminaba en periodontitis, y no está demostrado que la periodontitis vaya precedida siempre de gingivitis. Es por lo tanto un error describir la gingivitis como una forma inicial de periodontitis. Además está bastante clara la existencia de diferentes formas de enfermedad periodontal y no es válido ya el hablar de enfermedad periodontal como entidad única a la que todo el mundo está expuesto con igual riesgo sin medidas de higiene oral. Con lo cual si hablamos de prevalencia, va a depender de lo que realmente llamemos enfermedad. Si cualquier evidencia de inflamación es considerada como enfermedad periodontal, entonces las cifras de prevalencia se acercan al 100% de la población. Sin embargo si se utilizan medidas más realistas en cuanto a grado y severidad de la enfermedad, es decir, incluir únicamente individuos con pérdida de inserción mayor de 4-6 mm., se obtienen cifras sustancialmente más bajas (7-15% de la población).

En la última década los esfuerzos fueron encaminados a conocer la verdadera naturaleza de la actividad en la enfermedad periodontal, las distintas enfermedades periodontales y su progresión. Los profesionales comenzaron a hablar de "riesgo" de padecer la enfermedad y de "factores de riesgo" que pueden predisponer a un individuo a iniciar la enfermedad y su progresión (8-9). Hay que pensar por lo tanto en diferentes enfermedades para cada una de las cuales cierto número de individuos están en alto riesgo. Por lo que toda medida preventiva y de tratamiento que proponga las mismas medidas para todo el mundo, independiente del grado de riesgo, no es desde el punto de vista científico válido. Lo que hay que hacer es detectar los grupos de alto riesgo y realizar una prevención y tratamiento más racional (9). Por otro lado desde el punto de vista diagnóstico se han introducido una serie de tests que sin duda ayudarán a conocer mejor esta enfermedad. Diferenciar las distintas enfermedades periodontales. Identificar el inicio y la progresión de la enfermedad periodontal. Identificar dientes y personas susceptibles. Monitorizar mejor la respuesta al tratamiento.

1.1 Características de salud y enfermedad periodontal.

1.1.1. Salud periodontal.

El periodonto se compone de encía, ligamento periodontal, cemento y hueso alveolar. La encía se extiende desde el margen gingival hasta la unión mucogingival (excepto en el paladar) y esta anchura se hace mayor con la edad (10-12). En salud, el color de la encía es uniforme y rosa coral, aunque se admiten variaciones según el grado de queratinización, pigmentación, grosor y vascularización. La encía marginal es festoneada y va adelgazándose en sentido coronal para encontrar la superficie del diente con un margen en filo de cuchillo.

La encía interdental o papila presenta características topográficas especiales en función de las relaciones de contacto entre los dientes y anchura de las superficies dentales proximales. En cuanto a la consistencia, el tejido gingival sano es firme y flexible, estando fuertemente unida al hueso, excepto la encía libre o marginal que no se adhiere por la existencia del surco gingival. La textura de la superficie puede ser lisa o aparecer punteada como en cáscara de naranja. El surco gingival mide aproximadamente 1-2 mm. al sondaje (aunque puede llegar hasta 4 mm. en salud).

La encía se compone de epitelio escamoso estratificado y de tejido conectivo fibroso denso. El epitelio gingival se divide en epitelio oral queratinizado, epitelio sulcular paraqueratinizado y el epitelio de unión no queratinizado. El epitelio de unión se extiende desde la zona apical del surco gingival hasta la unión amelocementaria y se une al esmalte mediante la lámina basal interna y hemidesmosomas. El tejido conectivo gingival se compone de una lámina propia y no tiene submucosa. La lámina propia consta principalmente de colágeno denso con escasa cantidad de fibras elásticas y oxitalánicas, células vasos y nervios. La fibras de colágeno de la encía forman distintos grupos y anclan firmemente la encía mediante su inserción en el cemento y hueso alveolar. Los tipos de células predominantes incluyen fibroblastos, mastocitos, cementoblastos, cementoclastos, osteoblastos y osteoclastos. Además, células inflamatorias se encuentran en pequeñas cantidades, principalmente en el interior y subyacentes al epitelio de unión, tratándose sobre todo de leucocitos polimorfonucleares (PMN), macrófagos, monocitos, linfocitos y células plasmáticas (13,14). No se encuentran densos infiltrados inflamatorios. La vascularización de la encía es abundante y deriva de los vasos del periostio, ligamento periodontal y hueso alveolar. Subyacente a los epitelios sulcular y de unión encontramos una rica red capilar. Respecto al fluido crevicular puede ser o no detectado en encía sana dependiendo del método de recogida (15).

Otros componentes del periodonto normal y sano no son clínicamente accesibles y están protegidos del medio ambiente oral por la encía (hueso alveolar y ligamento periodontal). Estos únicamente pueden observarse en su zona interdental mediante radiografías y otras técnicas de imagen. La cresta alveolar interdental está normalmente 2 mm. por debajo de la unión amelocementaria y su tamaño y contorno varía con la posición y angulación dentaria, forma radicular, forma de la corona, estadio de la erupción y distancia entre las raíces. Una lámina dura intacta puede o no estar presente. El ligamento periodontal puede aparecer como una estrecha área radiolúcida entre la raíz y el hueso alveolar.

Los haces de fibras de colágena del ligamento periodontal y tejido conectivo supracrestal se insertan en el cemento del diente y en el hueso alveolar, para asegurar el diente en su alveolo. El tejido conectivo de inserción se extiende hasta la unión amelocementaria. La anchura del ligamento periodontal oscila entre 0,1 y 0,25 mm., dependiendo de la edad, estadio de erupción y función del diente.

La placa bacteriana del margen gingival asociada con salud periodontal consta fundamentalmente de cocos Gram positivos y escasas espiroquetas y formas móviles. Los estudios realizados con cultivo indican que los organismos predominantes son: *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii*, *Staphylococcus epidermidis*, *Rothia dentocariosa* y *Veillonella parvula* (16-19).

1.1.2. Enfermedades periodontales.

Gingivitis.

La gingivitis se define como la inflamación de la encía (20). Posteriormente se definió en relación al tipo de exudado, manifestaciones clínicas, etiología, asociada a enfermedades sistémicas, asociada con medicamentos, duración y asociada con factores locales o sistémicos (21).

La gingivitis ha sido dividida en tres estadios basados en la secuencia de acontecimientos histopatológicos. Estos estadios se suceden cuando se permite que se acumule la placa bacteriana en el margen gingival: Lesiones inicial, temprana y establecida (22). La lesión inicial aparece en los 4 primeros días, tras el acúmulo de placa y como una reacción inflamatoria aguda (23,24). Se caracteriza por un aumento de flujo de fluido crevicular y migración de leucocitos polimorfonucleares hacia el surco gingival procedente del plexo vascular subyacente al epitelio de unión y sulcular. Adyacente a estos epitelios, el infiltrado inflamatorio ocupa del 5% al 10% del tejido conectivo de la encía, donde el colágeno se ha perdido. Esta lesión inicial no es clínicamente visible (23). La lesión temprana que sigue a la inicial después de 7 días de acúmulo de placa (24,25), podría persistir durante 21 días o más y es clínicamente detectable como gingivitis (26,27). La lesión temprana se caracteriza por la persistencia de la lesión inicial y desarrollo de un infiltrado dominado por linfocitos y macrófagos, con algunas células plasmáticas localizadas en la periferia de la lesión. Los linfocitos comprenden el 75% de las células inflamatorias. El área infiltrada ocupa aproximadamente el 15% del tejido conectivo marginal de la encía con una destrucción de

colágeno en el área infiltrada alcanzando el 60-70%. La migración de leucocitos a través del epitelio de unión y el surco gingival, y el flujo de fluido crevicular alcanzan su máximo punto a los 6-12 días de la aparición de la gingivitis detectada clínicamente (28). Después de un período de tiempo variable, la lesión temprana evoluciona hacia la lesión establecida, caracterizada por un aumento en el tamaño de la encía afectada y un predominio de células plasmáticas y linfocitos B. Puede producirse una bolsa gingival revestida con su epitelio, el cual junto con el epitelio de unión se encuentran sumamente infiltrados con neutrófilos. Las células plasmáticas se encuentran en la periferia de la lesión y macrófagos y linfocitos están presentes en la lámina propia de la pared de la bolsa (29). Los signos clínicos de inflamación gingival son evidentes y pueden llegar a ser severos. Las lesiones establecidas aparentemente pueden persistir durante meses o años sin que progresen (21).

Periodontitis.

La conversión de lesión establecida en lesión avanzada (periodontitis), caracterizada por la destrucción de la inserción del tejido conectivo a la superficie radicular y pérdida de hueso alveolar, ha sido estudiada pero los mecanismos involucrados no se comprenden completamente (21,30,31). La lesión mantiene todas las características de la lesión establecida, y además, se produce una migración apical del epitelio de unión que da lugar a la bolsa periodontal o profundización patológica del surco gingival (32). Puede darse invasión bacteriana de la bolsa, aunque a menudo la causa puede ser desplazamiento o manipulación, más que invasión en ese momento (33,34,35,36). Clínicamente, la periodontitis se caracteriza por la presencia de inflamación gingival, bolsas, pérdida de hueso alveolar y de inserción al sondaje. La destrucción de la inserción periodontal y del hueso alveolar sucede como resultado de las interacciones entre factores del huésped y de las bacterias. Por otro lado hay que diferenciar entre periodontitis y gingivitis con pérdida de hueso preexistente (36). Esta situación existiría en caso de recurrencia de gingivitis en un periodonto reducido pero sano, fruto de una exitosa terapia de la periodontitis.

Hay que tener en cuenta que estos estadíos histopatológicos en las lesiones de gingivitis (inicial, temprana y establecida) y periodontitis (avanzada) están hechos en biopsias de animales y adolescentes.

Más recientemente, Brex y col. en un estudio longitudinal experimental en adultos sin higiene, demostraron que durante un período de 6 meses en estos pacientes sin higiene, se producía un predominio de granulocitos y linfocitos. Durante ese período la fracción de tejido

conectivo infiltrado por células plasmáticas aumentaba continuamente a lo largo del estudio, mientras disminuía significativamente el volumen de fibroblastos y colágeno (37). Después de 6 meses sin higiene, la fracción de células plasmáticas alcanzaba solo el 10% del total del infiltrado celular, no representando por tanto el tipo celular predominante, como ocurre en la lesión establecida de Page y Schroeder. Por lo que Brex y col. concluyen, que es necesario más de 6 meses sin higiene oral para que se produzca una gingivitis crónica caracterizada por un predominio de células plasmáticas. Estos autores también estudiaron la cinética asociada a la resolución de la gingivitis mediante la reinstauración de técnicas en higiene oral. Después de 6 meses de perfecta higiene oral no se detectaron más células plasmáticas (38, 39). Estos estudios parecen indicar que la cronología de los cambios histológicos asociados a la acumulación de placa pueden ser significativamente diferentes en adultos, adolescentes y animales.

Con respecto a cambios en otros parámetros inflamatorios es importante mencionar (40), que los cambios edematosos asociados clínicamente con inflamación gingival, no parecen estar acompañados por un aumento en la densidad de la microvascularización.

Por otro lado la presencia de similitudes histopatológicas del infiltrado inflamatorio entre la lesión establecida estable y las lesiones periodontales avanzadas, han hecho que se investigue en diferencias cualitativas y cuantitativas (41, 42, 43, 44). Estos investigadores observaron un aumento en el número de células inflamatorias en el infiltrado supracrestal de zonas en donde se había producido pérdida de inserción previa, y con respecto a zonas que no habían sufrido esa pérdida de inserción. Un análisis posterior indicó un aumento significativo en el número y porcentaje de macrófagos, c^a plasmáticas, mastocitos y linfocitos. Además se observó un descenso significativo en el número y porcentaje de fibroblastos en las zonas con pérdida de inserción.

Recientemente Moskow y Polson, apuntaron que la mayoría de los estudios histopatológicos actuales de la enfermedad periodontal aceptaban el paradigma que las lesiones inicial, temprana y establecida son lesiones que se localizan en la encía y por tanto solo se investiga en biopsias de tejido blando (45). Ellos reexaminaron una serie de cortes de mandíbula humana que comprendía diferentes situaciones clínicas. Los resultados de la investigación sugieren que la lesión inflamatoria podría extenderse al proceso alveolar y provocar una respuesta, a menudo antes de que se produzca la destrucción de la inserción conectiva y reabsorción de la cresta alveolar.

1.2. Clasificación de las enfermedades periodontales (46).

1.2.1. Gingivitis.

La gingivitis asociada a placa es aparentemente la más común de las enfermedades periodontales. Se caracteriza clínicamente por enrojecimiento, sangrado gingival, edema o agrandamiento, sensibilidad gingival y fragilidad. La gingivitis experimental se produce cuando pacientes clínicamente normales abandonan todas las medidas de higiene oral. Los signos clínicos de inflamación aparecen entre la 1ª y 3ª semanas, sin embargo, el aumento de flujo de fluido crevicular y de leucocitos se produce antes. La gingivitis experimental se caracteriza por un aumento gradual en la cantidad y espesor de la placa en el margen gingival que parece representar un sobrecrecimiento de la placa bacteriana Gram positiva asociada a encía sana. Miembros del género *Actinomyces* y *Streptococcus* predominan en la placa supra y subgingival, junto con el aumento de especies Gram negativas en la flora subgingival, *F. nucleatum*, *V. parvula* y especies de *Treponema*.

En la gingivitis crónica, el 25% de las bacterias podrían ser Gram negativas, incluyendo filamentos largos, miembros de *Fusobacterium*, *Veillonella*, *Campylobacter* y *P. intermedius*. Parece probable que la mayoría de las gingivitis son inducidas por la placa, sin embargo factores secundarios pueden modificar las características clínicas de la enfermedad, dando lugar a subclasificaciones.

Gingivitis úlceronecrotizante aguda (GUNA).

Es una infección gingival, recurrente, aguda de etiología compleja, caracterizada por necrosis de las puntas de las papilas, sangrado espontáneo, dolor y halitosis. La invasión bacteriana del conectivo por espiroquetas ha sido demostrada por microscopía electrónica. Los fusiformes también son numerosos. Se han aislado en estas lesiones elevadas proporciones de *P. intermedius*. Episodios recurrentes de GUNA son probables, y puede desarrollarse una cronificación que conduzca a periodontitis, denominándose entonces gingivoperiodontitis úlceronecrotizante.

Gingivitis influenciada por hormonas esteroideas.

Son manifestaciones como gingivitis puberal, gingivitis del embarazo, gingivitis asociada a anticonceptivos orales y a tratamiento con esteroides. Aparentemente, el crecimiento subgingival de *Bacteroides* se acrecenta cuando las hormonas esteroideas están elevadas. Estas formas de gingivitis se caracterizan por una respuesta, en apariencia, exagerada a la placa, reflejada por intensa inflamación, enrojecimiento, edema y

agrandamiento. Los casos severos de este tipo de gingivitis podrían progresar a un granuloma piógeno (tumor del embarazo).

Agrandamiento gingival asociado a medicamentos.

Los fármacos que más frecuentemente provocan dicho agrandamiento son la fenitoína, la ciclosporina y la nifedipina. El agrandamiento gingival por fenitoína, puede requerir o no la presencia de placa para su desarrollo. La fenitoína, en cultivo de tejidos, estimula los fibroblastos y células epiteliales. Clínicamente la lesión comienza como abultamiento del margen gingival y la papila. El agrandamiento progresa y los crecimientos papilar y marginal se unen. El crecimiento excesivo da como resultado la formación de pseudobolsas.

Gingivitis descamativa.

Se caracteriza por la descamación o desprendimiento del epitelio gingival dejando una superficie intensamente enrojecida. El desprendimiento del epitelio se debe a la vesiculación, y debería considerarse un signo más que una enfermedad. La mayoría de los casos representan manifestaciones orales de las dermatosis: líquen plano erosivo, penfigoide benigno de las mucosas, penfigoide bulboso y pénfigo vulgar, las cuales podrían involucrar toda o parte de la encía y de otras superficies mucosas de la cavidad oral. Algunas de ellas presentan serias implicaciones médicas y el diagnóstico precoz es esencial. Las lesiones descamativas también pueden ser causadas por reacciones alérgicas (gingivoestomatitis alérgica).

Otras formas de gingivitis están asociadas con alteraciones sanguíneas, deficiencias nutricionales, tumores, factores genéticos, respiración oral e infecciones bacterianas y virásicas difusas.

1.2.2. Periodontitis.

A lo largo de la historia de la periodoncia se han establecido diversas clasificaciones de las diferentes periodontitis. Actualmente las dos más aceptadas son, la del World-Workshop de 1989 (46) y la más reciente la del I European Workshop del 94 (47).

La clasificación del World-Workshop, está basada en criterios de edad, velocidad de progresión, cambios radiográficos, y factores microbiológicos fundamentalmente.

- I. Periodontitis del adulto.
- II. Periodontitis de aparición temprana.
 - A. Periodontitis prepuberal.
 - 1.- Generalizada.
 - 2.- Localizada.
 - B. Periodontitis juvenil.
 - 1.- Generalizada.
 - 2.- Localizada.
 - C. Periodontitis rápidamente progresiva.
- III. Periodontitis asociada a enfermedades sistémicas.
- IV. Periodontitis úlcernecrotizante.
- V. Periodontitis refractaria.

La clasificación del I European Workshop está basada en criterios etiopatogénicos. Las modificaciones con respecto a la anterior son: Desaparece la periodontitis prepuberal aislada, asociándose por tanto al síndrome L.A.D. (del inglés "*Lecocyte Adherence Deficiency*") pasando a formar parte del grupo de periodontitis asociada a enfermedades sistémicas. La periodontitis juvenil generalizada es la misma que la rápidamente progresiva, y desaparece la periodontitis refractaria.

- I. Periodontitis crónica del adulto.
- II. Periodontitis de comienzo temprano.
 - A. Periodontitis juvenil localizada.
 - B. Periodontitis rápidamente progresiva (P. juvenil generalizada).
- III. Periodontitis asociada a enfermedades sistémicas.
- IV. Periodontitis asociada a VIH.

Periodontitis del adulto.

Podría tener su comienzo en la adolescencia y continuar durante el resto de la vida del individuo. Habitualmente no es clínicamente significativa hasta mediados los treinta. La prevalencia y severidad aumentan con la edad, la progresión generalmente es lenta y continua, y parece no tener predilección por el sexo. La presencia y severidad de la periodontitis del adulto se relaciona directamente con la presencia de placa y cálculo. La función de neutrófilos y linfocitos es aparentemente normal. Las bacterias asociadas a la periodontitis del adulto varían en función de la tasa de destrucción periodontal, actividad y

resistencia del huésped. El componente adherido de la placa subgingival se compone habitualmente de *A. israelii*, *A. naeslundii* y *A. viscosus*. En la porción no adherida predominan espiroquetas y bacilo Gram negativos.

Periodontitis de aparición temprana.

Se distinguen de la del adulto principalmente por: edad de aparición antes de los 35 años, rápida progresión de la destrucción de tejido, manifestación de defectos en la defensa del huésped y la composición de la flora asociada.

Periodontitis prepuberal

Es una rara entidad y puede manifestarse como enfermedad localizada o generalizada.

La periodontitis prepuberal generalizada afecta a dientes temporales y permanentes, y comienza con la erupción de la dentición adulta. Se caracteriza por inflamación gingival severa, rápida pérdida de hueso, movilidad y pérdida de dientes. Los pacientes presentan defectos de los leucocitos polimorfonucleares y mononucleares y están sujetos a padecer otras infecciones como otitis media, de piel y vías respiratorias altas.

La periodontitis prepuberal localizada afecta solamente a algunos de los dientes permanentes, es menos agresiva, y podría relacionarse bien con defecto de los leucocitos polimorfonucleares, o bien de los mononucleares, pero no de ambos. La periodontitis prepuberal se asocia a una flora subgingival con predominio de *P. intermedius* y *Capnocytophaga sputigena*. Actualmente, como ya se ha mencionado en la última clasificación, es una periodontitis que se asocia a enfermedades sistémicas, porque desde un punto de vista etiopatogénico se ha demostrado una deficiencia en la adherencia de los neutrófilos al endotelio de los capilares, y por lo tanto hay un retraso en la migración de los mismos, haciendo a un individuo altamente susceptible.

Periodontitis juvenil

Comienza alrededor de la pubertad y se caracteriza por defectos óseos verticales severos en los primeros molares permanentes y, a veces, los incisivos. La proporción y severidad de la destrucción no son coherentes con la escasa cantidad de placa, y carece de signos clínicos severos de inflamación. Las mujeres se afectan más que los hombres (3:1), la raza negra más que la blanca y la proporción de caries en estos pacientes es baja. La tasa de pérdida de inserción es de 3 a 5 veces más rápida que en la periodontitis del adulto. Los

estadios iniciales de la enfermedad pueden incluir uno o dos sitios alrededor de los primeros molares e incisivos, y el diagnóstico definitivo se realiza cuando al menos tres sitios presentan una pérdida de inserción de 5 mm. o más. La enfermedad puede tener ciertas bases genéticas (dominante ligada al cromosoma X, o autosómico recesiva). La quimiotaxis de los neutrófilos disminuida y en menor grado la fagocitosis, son hallazgos frecuentes de esta enfermedad que no desaparecen con el tratamiento. La respuesta blastogénica de los linfocitos es normal y la respuesta linfocítica autóloga mixta está elevada o dentro de límites normales. Los microorganismos subgingivales predominantes asociados con periodontitis juvenil son *A. actinomycetemcomitans*, *Capnocytophaga ochracea*, *Prebotella intermedius* y *Eikenella corrodens*.

La periodontitis juvenil generalizada se produce a una edad temprana (12-30 años) y se caracteriza por una rápida y severa destrucción periodontal alrededor de la mayoría de los dientes. Se asocia con una alteración de la quimiotaxis neutrófila, y una flora subgingival en la que predominarían *Porfiromona gingivalis* y *E. corrodens*. En la actualidad esta periodontitis juvenil generalizada se considera la misma entidad clínica que la periodontitis rápidamente progresiva.

Periodontitis rápidamente progresiva.

La padecen adultos jóvenes, desde los veinte hasta mediados los treinta años. Se caracteriza por una inflamación gingival severa, rápida pérdida de tejido conectivo de inserción y de soporte de hueso alveolar. Un gran porcentaje (aproximadamente el 66%) de las personas afectadas presentan una respuesta de la quimiotaxis neutrófila, y la linfocítica autóloga mixta deprimidas. Es muy posible que existan implicaciones genéticas en relación a esta enfermedad.

En contraste con esta descripción de la periodontitis rápidamente progresiva tipo A, se ha reseñado una variante, tipo B. Se encuentra en un grupo de edad ligeramente mayor (26 a 35 años) y se asocia con una cantidad significativa de placa y cálculo.

Las bacterias asociadas a esta entidad comprenden: *Porfiromona gingivalis*, *Prebotella intermedius*, *B. capillus*, *Eikenella corrodens*, *Eubacterium brachy*, *E. nodatum*, *E. timidum*, *Fusobacterium nucleatum*, *L. minitus* y *Wolinella recta*.

Periodontitis asociada a enfermedades sistémicas.

Son formas rápidamente progresivas de periodontitis que se relacionan con enfermedades sistémicas: Diabetes mellitus tipo I, síndrome de Down, síndrome de Papillón-Lefevre, neutropenia, síndrome de Chediak-Higashi, síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), y otras enfermedades menos frecuentes.

Periodontitis refractaria.

Se refiere a la afectación de múltiples localizaciones en pacientes que continúan demostrando pérdida de inserción tras una terapia aparentemente apropiada. Dichas localizaciones presumiblemente continúan infectadas por patógenos periodontales. Los sitios refractarios exhibieron niveles elevados de *B. forsythus*, *F. nucleatum*, *S. intermedius*, *E. corrodens* y *P. gingivalis*, sin embargo los sujetos diferían en las combinaciones de especies predominantes. En la actualidad no se considera dentro de la clasificación por la existencia de muchos falsos positivos, es decir muchas periodontitis maltratadas que se consideraban como refractarias.

1.3. Evidencia de la existencia de grupos e individuos de alto riesgo para padecer enfermedad periodontal.(48-53)

El conocimiento de la historia natural de la destrucción periodontal todavía es escaso. Requiere de estudios longitudinales los cuales son costosos y transcurren décadas hasta emitir los resultados. El trabajo de Löe (1978,1986) (3,54) sobre trabajadores de té en Sri Lanka resulta por esta razón de enorme importancia. Demostró de forma clara, durante un período de tiempo de 15 años, que existían 3 grupos de poblaciones con distinto grado de susceptibilidad a los que denominó: rápidamente progresiva, moderadamente progresiva y no progresiva, obteniendo que las padecían el 8%, 81% y 11% respectivamente. Lo importante no es tanto la proporciones obtenidas sino la clara demostración de que existe un espectro de progresión de enfermedad, el cual no se relaciona con niveles de higiene oral, cálculo o gingivitis. Estas observaciones implican la importancia de factores del huésped, en una población con malnutrición crónica y un alto nivel de enfermedad intercurrente.

Como ya se ha indicado el término "enfermedad periodontal" abarca un amplio rango de procesos de enfermedad y manifestaciones, cada una de las cuales muestra un alto grado de especificidad. Es evidente que no todos los miembros de una comunidad dada se encuentran en igual riesgo para todas y cada una de estas condiciones.

Las enfermedades periodontales se caracterizan por ser:

- 1.- Tipo-específica.
- 2.- Sitio-específica.
- 3.- Edad-específica.
- 4.- Tiempo-específica.
- 5.- Población-específica.
- 6.- Paciente-específica.

Tipo-específica. Clasificación de las enfermedades periodontales.

Las clasificaciones de los estados inflamatorios de la mayoría de los sistemas de órganos o tejidos, se han intentado establecer basándose en el conocimiento del agente(s) etiológico(s) o en el defecto específico de la defensa del huésped que predispone a que tenga lugar la lesión. De esta manera no existe una clasificación enteramente satisfactoria para la enfermedad periodontal, al no ser suficientemente comprendidos los factores etiológicos y los factores del huésped.

Las clasificaciones actuales tienden a basarse en los fenómenos clínicos como edad de aparición, distribución de dientes o tejidos afectados y tasa de progresión de la enfermedad. Los términos más comunmente utilizados son:

<u>Edad.</u>	<u>Distribución.</u>	<u>Tasa de progresión.</u>
Infantil	Gingivitis	Lenta
Juvenil	Periodontitis	Rápida
Post-juvenil	Localizada	Cíclica
Adulto	Generalizada.	

De esto en teoría resultarían 48 tipos clínicos distintos de enfermedad periodontal, lo que constituye una clasificación claramente irreal.

La clasificación que se admite actualmente (46,47), tiene en cuenta la presentación clínica y enuncia las diferentes enfermedades para las cuales podrían buscarse razonablemente factores etiológicos, del huésped y marcadores de riesgo para la enfermedad.

Es importante insistir que la inflamación en cualquier tejido es un proceso que puede presentarse de forma aguda o crónica, en quietud o como parte de un proceso reparador y que puede haber evolución en el tiempo de todas estas fases en ambas direcciones. Es importante separar gingivitis de periodontitis.

<-- <-- <--

Gingivitis.- Aguda--> Crónica--> Estable--> En reparación

Periodontitis.- Aguda-->Crónica-->Estable-->En reparación

<-- <-- <--

Sitio-especificidad de las enfermedades periodontales.

La especificidad de sitio o de lugar se ha usado en parte para definir el tipo de enfermedad periodontal, sobre todo para separar gingivitis de periodontitis. En las formas destructivas de enfermedad periodontal, la distribución de las lesiones en la boca es también un criterio importante para definir el tipo. El mejor ejemplo es la periodontitis juvenil localizada (PJJ), donde la destrucción se produce sobre todo a nivel de incisivos centrales y de primeros molares. En contraste la enfermedad periodontal del adulto presenta un patrón de pérdida ósea y de inserción más uniforme y horizontal. Para las formas más prevalentes de periodontitis del adulto es posible que también exista especificidad de sitio.

Estudios epidemilógicos transversales demuestran que no todos los dientes están expuestos a igual riesgo (55). Así los primeros molares superiores seguidos de los segundos molares superiores e incisivos inferiores son los más susceptibles. La pérdida de inserción que se produce a nivel de premolares está fundamentalmente asociada con el cepillado y materiales abrasivos.

Edad-específica en las enfermedades periodontales.

Está claro que existe como se demuestra en el síndrome de Papillón-Lefevre, periodontitis juvenil, periodontitis rápidamente progresiva. Pero aparte de estas existe la idea de que la prevalencia y severidad de la enfermedad periodontal aumenta con la edad, aunque esto se discute, ya que los métodos clínicos (índices) no son apropiados ya que no miden actividad en un momento determinado, y sí registran los efectos del acúmulo de enfermedad. Por lo que el decir que la prevalencia y severidad aumentan con la edad es un simple reflejo del largo tiempo que un individuo ha estado sujeto a riesgo. Por otro lado este efecto podría esperarse por la involución senil, aunque tampoco está claro.

Tiempo específico en las enfermedades periodontales.

En los últimos años se ha prestado mucha atención a la "hipótesis del brote" ("burst hypothesis") para definir la progresión de la enfermedad periodontal (4), según la cual células y tejidos son agredidos por varios estímulos del entorno, poniendo en marcha los mecanismos de defensa del huésped.

La lesión será reparada en mayor o menor grado, pero habitualmente de forma incompleta. El grado de lesión residual (molecular, celular o tisular) se acumula con la edad. La fase de actividad se sigue entonces por una fase de reparación, la cual se continúa por una de homeostasis. Se puede esperar que la enfermedad periodontal muestre una actividad cíclica, pero no se ha probado que sea la base de las enfermedades periodontales más comunes.

En ausencia de marcadores clínicos o de laboratorio satisfactorios de actividad de enfermedad, las interpretaciones se han basado en registros retrospectivos de cambios de nivel de inserción, siendo posible detectar brotes de actividad si estas medidas son repetidas en cortos intervalos de tiempo, en los mismos sitios y en el mismo sujeto. Sin embargo no conocemos la duración, espaciamiento, frecuencia ni distribución intraoral de dichos brotes. De todas maneras parece probable que la duración de estos brotes sea de algunas horas o pocos días, lo que implicaría que la toma de dos registros estaría muy poco separada en el tiempo, provocando una distorsión de la historia natural de la enfermedad.

Población específica en la enfermedad periodontal.

Durante muchos años se pensó que esta enfermedad estaría relacionada con países en vías de desarrollo en relación con malas condiciones de higiene. Ahora hay evidencia de que la enfermedad periodontal destructiva en el adulto es minoritaria y similar en datos de prevalencia en muchas partes del mundo (tanto en países en desarrollo como industrializados).

Sin embargo existen importantes diferencias raciales, geográficas y de población (3,54,56). Por ejemplo la GUNA afecta fundamentalmente a jóvenes adultos en el Este pero afecta a niños jóvenes en la mayoría del África rural. Con la periodontitis juvenil hay importantes diferencias raciales (negros el 0,8%; amarillos 0,2%; blancos 0,02%) (57).

Paciente-específico en la enfermedad periodontal.

Cada individuo varía en su susceptibilidad por contraer una de las formas de enfermedad periodontal, de acuerdo con factores generales como edad, sexo o grupo racial.

El equilibrio que determina que exista un riesgo mayor o menor depende de factores complejos que inclinan la balanza entre la naturaleza e intensidad del estímulo dañino por un lado, y la naturaleza y eficacia de la respuesta del huésped por otro.

Si una o más de las enfermedades periodontales fueran causadas por uno o más microorganismos específicos patógenos, o grupo de ellos, la enfermedad podría acaecer únicamente si el sujeto fuera infectado por estos. La presencia de estos microorganismos en la boca podría ser diagnóstico de actividad de enfermedad, o un fuerte marcador de enfermedad en desarrollo. Sin embargo está claro que tenemos insuficientes conocimientos para recomendar de forma rutinaria un screening microbiológico para detectar grupos de riesgo.

Los mecanismos de defensa que operan en la enfermedad periodontal son complejos, tanto a nivel sistémico como local. Operan múltiples vías de la inflamación no específica y de la inmunidad específica mediada por células y humoral, que interactúan. Es difícil determinar cuales de estas vías son protectoras, cuales dañinas y cuales son causales.

La variación en la eficacia de los mecanismos de defensa influyen en la susceptibilidad a la enfermedad y define los grupos e individuos de riesgo de desarrollar periodontitis destructiva. Por lo que la medición o valoración de la naturaleza y eficacia del estado inmunológico del paciente puede definir grupos de riesgo.

Métodos para detectar grupos e individuos de alto riesgo de padecer enfermedades periodontales.

Factores generales.

Raza, sexo, edad, grupo socio-económico, inmunodepresión, estado nutricional, dieta, enfermedades intercurrentes, estrés.

Marcadores clínicos.

Grado de severidad de la enfermedad en relación con la edad.

Niveles de higiene oral.

Malposición dentaria.

Restauraciones inadecuadas.

Marcadores de laboratorio.

1.- De sangre periférica.

HLA.

Título de anticuerpos frente a periodontopatógenos.

Estado nutricional.

Marcadores de enfermedad intercurrente.

2.- De saliva.

Título de anticuerpos.

Niveles de enzimas.

Contage bacteriano.

Composición celular.

3.- De fluido crevicular.

Células y su capacidad funcional.

Título de anticuerpos.

Toxinas y enzimas.

Productos de destrucción tisular.

Citoquinas.

pH.

Eh.

4.- De la placa bacteriana subgingival.

Organismos presentes.

Toxinas y enzimas.

5.- De los tejidos.

Poblaciones celulares (inflamatorias e inmunes).

Alteraciones epiteliales.

Alteraciones del tejido conectivo.

1.4. PLACA BACTERIANA. FACTOR ETIOLOGICO PRINCIPAL.

Determinar los agentes etiológicos que producen las enfermedades de un órgano o sistema determinado, lleva tiempo. Es necesario tiempo extra para desarrollar tests

diagnósticos adecuados y apropiados para esos agentes e investigar terapéuticas específicas frente al factor etiológico específico. En el campo de la periodoncia tenemos el problema etiológico todavía por resolver.

La flora normal del organismo, sirve tanto como defensa frente a microorganismos exógenos como fuente de microorganismos potencialmente patógenos. Las membranas mucosas están normalmente colonizadas por una larga y diversa flora microbiana. Por lo que se refiere a la mucosa oral, es de los sitios del organismo con mayor carga bacteriana.

1.4.1. Flora oral. (58)

Bowden y col. (1979) aislaron alrededor de 21 géneros de bacterias que incluían a unas 60 especies. Hoy se sabe que solo en la placa dental pueden ser aisladas unas 200 especies bacterianas. De estas algunas como *Actinomyces*, *Bacterionema*, *rothia* y *Leptotrichia* (todos bacilos y filamentos Gram positivos), parecen ser autóctonos ya que no han sido aislados en otro hábitat.

Clasificación de la flora oral.

Esta se clasifica según su prevalencia en:

1.- Flora normal.

Casi siempre está presente. Su hábitat es la cavidad bucal. Puede ser **indígena**, están casi siempre presentes y en un número mayor del 1% en un sitio determinado (placa supragingival, dorso de la lengua). Dominada por bacterias anaerobias y facultativas que tienen un crecimiento óptimo a temperatura corporal (*Streptococcus*, *Actinomyces*, *Neisseria* y *Bacteroides*).

Flora normal suplementaria. Es la más importante desde el punto de vista patogénico. Casi siempre está presente pero en número inferior al 1%. Se puede hacer indígena si cambia el medio ambiente, es decir si aparece patología (*Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, *espiroquetas*, *P.gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*).

2.- Flora transicional.

Son los que están de paso, como los que se encuentran en alimentos, bebida, etc. Rápidamente desaparecen porque no pueden sobrevivir en el ambiente oral. Desde el punto de vista patogénico no son muy importantes.

1.4.2. Factores que influyen en el crecimiento bacteriano bucal. (59,60)

Hasta mediados de los 60 se pensaba que la flora oral era una comunidad bacteriana que estaría representada en la saliva. Ahora se sabe que las bacterias de la saliva representan las bacterias de los tejidos blandos y mínimamente las de los dientes.

1.4.2.1. Anaerobiosis.

En un principio no se pensó en ello por la fácil accesibilidad del oxígeno. Posiblemente se ignoraba debido a que el 10% de los organismos, observados con microscopio crecían en ambiente aerobio; aunque se empezó a cambiar de idea cuando se observó la asociación fuso-espiroquetal en placa subgingival tomada de zonas periodontalmente inflamadas.

Con la introducción de métodos de cultivo anaerobio la cantidad de gérmenes aislados fue superior. Con las jarras anaeróbicas se aislaban el 20% y con las cámaras de anaerobios el 70%.

La conclusión fue que si en la flora dominaban los gérmenes anaerobios, las membranas de la mucosa oral debían constituir un ambiente anaerobio.

La cantidad de oxígeno que se encuentra en la atmósfera es del 21%. Si lo comparamos con las diferentes zonas de la boca, tenemos:

- Lengua, 12-14%.
- Superficie mucosa lateral a los molares, 1%.
- Zona supragingival, 1-20%.
- Zona subgingival 1-2%.

Otras formas de medir la anaerobiosis es mediante el potencial oxidación-reducción (Eh). Sabemos que las bacterias aeróbicas necesitan un potencial Eh positivo para sobrevivir y las aneróbicas Eh negativo. En la saliva hay un potencial Eh de +200 mv., similar al de la placa del primer día. A medida que va madurando esta se transforma en negativo (la flora cambia de facultativa a anaeróbica).

Las bacterias anaeróbicas son eliminadas por el oxígeno mediante el radical superóxido (actúa sobre la membrana de las bacterias). Las bacterias aeróbicas se defienden frente a este radical con la enzima superóxido dismutasa (convierte el radical superóxido en peróxido de hidrógeno que a su vez es reducido por la célula a agua).

Biológicamente esto significa que los gérmenes están separados de las células del huésped por una serie de barreras que impiden su invasión:

- Barrera física que forman las células epiteliales.
- Barrera eléctrica, por la diferencia de potencial.
- Sistema inmunológico.

Por lo tanto existe una relación simbiótica entre la flora anaerobia y la membrana mucosa, ya que aquella no invade los tejidos y esta le proporciona los nutrientes necesarios para sobrevivir.

1.4.2.2. Fuentes nutritivas en la cavidad oral. (61,73)

1.- Dieta. Es la más importante fuente de nutrientes para las bacterias debido a su composición química, consistencia física y frecuencia de presentación.

2.- Saliva. Presenta nutrientes que pueden mantener un ligero crecimiento bacteriano, en períodos en los que no se come.

3.- Fluido crevicular. Muy importante para la flora subgingival. Tiene ciertos componentes séricos (hemina, vitamina k, estradiol/progesterona, etc.) que pueden actuar como factor de selección para las bacterias del surco.

4.- Células descamadas. Pueden ser lisadas por la saliva y su contenido ser utilizado por la saliva.

5.- Interacciones entre bacterias.

Strep. *Veillon.*

Sacarosa-----> Lactato----->Acetato,propionato.

Nichos ecológicos orales.

Antes de 1963, la mayoría de los microbiólogos habían considerado que la flora oral estaba uniformemente distribuida por la boca y concentraron sus esfuerzos en cultivar la saliva pensando que era la imagen de la flora. Pero posteriormente se demostró la heterogeneidad en la distribución de la flora oral.

- Dorso de la lengua, saliva y mucosas presentan una flora muy similar, con predominio de los *Streptococcus*, sobre todo *S. salivarius*.
- Superficie dentaria (placa supragingival) *Streptococcus mutans*, *sanguis* y *Actinomyces*.
- Superficie subgingival. Anaerobios y Gram negativos.

1.4.3. Desarrollo y significado clínico. (62)

La importancia de las bacterias en la placa dental y en el desarrollo tanto de la caries como de la enfermedad periodontal ha evolucionado en los últimos 20 años. En 1963 Socransky y col. (74) demostraron que la placa dental humana contiene $1,7 \times 10^{11}$ organismos por gramo, demostrando que la placa está constituida fundamentalmente de bacterias más que de restos de alimentos como se había pensado.

La relación entre la mala higiene, formación de depósitos dentales y desarrollo de enfermedades dentales ha sido reconocida durante siglos. Hay evidencia científica implicando a la placa dental como el factor más importante en el desarrollo de las enfermedades periodontales:

- 1.-Estudios epidemiológicos .
- 2.-Estudios experimentales en animales gnotobióticos.
- 3.-Estudios experimentales en humanos (Løe 1965). Estudios experimentales en perros (Lindhe 1976).
- 4.-Estudios clínicos longitudinales.

Concepto.

Asociación de bacterias a la superficie dentaria con estructura interna, a diferencia de la materia alba que no la tiene. La fuerza de adherencia de ambos depósitos es diferente, siendo mayor para la placa.

La podemos clasificar en: **Supragingival** (coronal y marginal).
Subgingival.

Composición.

- Microorganismos (70-80 %). Hay más de 200-400 especies. Además de bacterias se pueden encontrar mycoplasma, hongos, protozoos y virus.
- Células epiteliales descamadas.
- Leucocitos, macrófagos.
- Matriz intercelular adherente (25%). Lo diferencia de la materia alba y le confiere estructura interna.

Importancia etiológica y significado clínico.

La relación entre la mala higiene, formación de depósitos dentales y desarrollo de enfermedades dentales ha sido reconocida durante siglos. Hay por tanto suficiente evidencia científica implicando a la placa dental como el factor etiológico más importante en el desarrollo de las enfermedades periodontales:

- Los estudios epidemiológicos (Ramfjord) (63) demuestran que la falta de higiene y la edad son las únicas variables que influyen en la prevalencia y severidad de la enfermedad periodontal. Hay casi una relación lineal entre severidad de la enfermedad y falta de higiene.
- Estudios experimentales en animales gnotobióticos. Mono infectaron con patógenos sospechosos (actinomyces) a estos animales reproduciendo la enfermedad periodontal (Jordan y Keyes, 1964). (64)
- Estudios experimentales en humanos y en perros. (Loe, 1965 y Lindhe, 1976). (23,28)
- Estudios clínicos longitudinales. La higiene oral y/o antimicrobianos, detiene o previene la enfermedad periodontal. (65,66)

La formación de la placa implica una historia de colonización, selección y maduración. La primera capa que se forma sobre las superficies naturales o artificiales es una capa de material orgánico, denominada película. La transición de película a placa es muy rápida, e implica la adhesión de bacterias y su proliferación. (67)

El desarrollo de la placa sufre un cambio sucesional en su composición. (16,68,69,70). La progresión aceptada es la de una población constituida principalmente por:

- 1.- Cocos anaerobios facultativos Gram-positivos (especies de *Streptococcus*).
- 2.- Bacilos Gram-positivos (especies de *actinomyces*).

3.- Organismos Gram-negativos, especialmente bacilos anaerobios y filamentos (especies de *bacteroides* y *fusobacterium*).

La placa dental madura se caracteriza por su complejidad. Este cuadro de progresión parece ser el mismo tanto, para el acúmulo de placa supragingival como subgingival. Se acepta también que los dos extremos de la sucesión representan la flora asociada a salud y a enfermedad respectivamente. Los microorganismos presentes en cada estadio determinan los subsiguientes cambios sucesionales.

La placa supragingival influye en el crecimiento, acumulación y el potencial patogénico de la placa subgingival, especialmente en los primeros estadios de gingivitis y periodontitis. Una vez que la enfermedad ha progresado y ha tenido lugar la formación de la bolsa periodontal, la influencia de la placa supragingival sobre la placa subgingival es mínima.

Cuando ocurre el acúmulo y maduración de la placa supragingival, se producen cambios inflamatorios que modifican la relación anatómica del margen gingival y la superficie dentaria. Como resultado de todo esto se produce un nuevo ambiente ecológico (Eh- y anaerobiosis) que favorece el desarrollo de la flora subgingival. (Fig. 1)

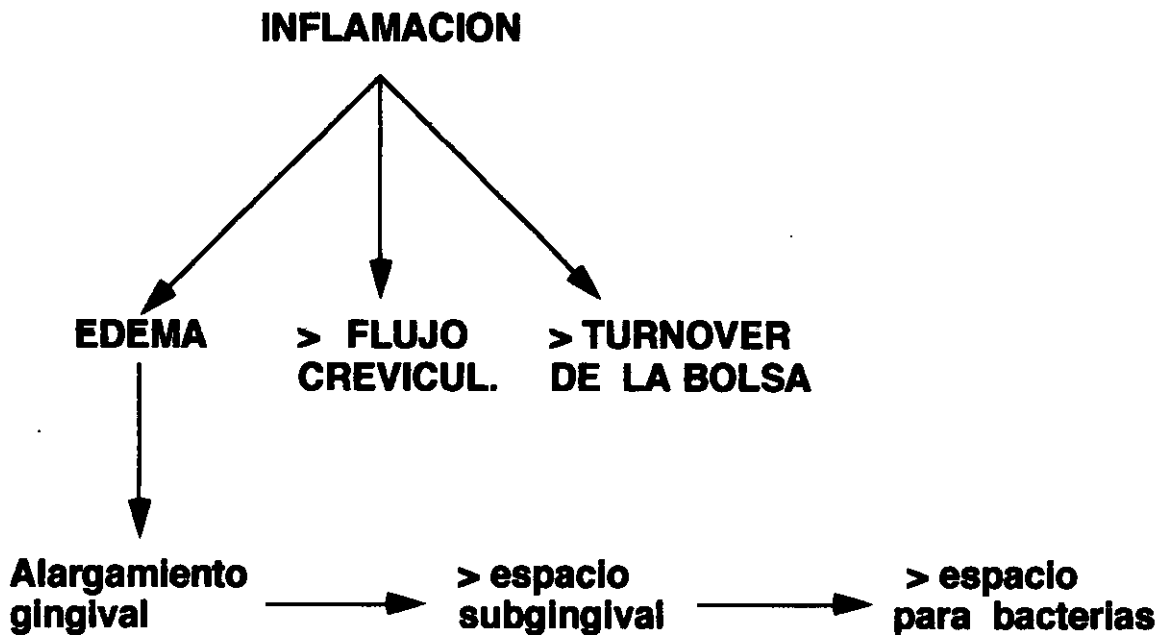


Fig. 1. Cambios inflamatorios en el margen gingival, que provocan una alteración anatómica del mismo.

Estudios con microscopía electrónica que han investigado la estructura interna de la placa subgingival, han diferenciado entre placa asociada al diente, asociada al epitelio y placa asociada a tejido conectivo. (Fig 2) (71,72,75,76,77,78)

Adherida al diente	No adherida	Adherida al epitelio
- Predominio de bacterias G+.	- Gram variable	- Gram variable.
- No se extiende hasta el epitelio de unión.	- Se extiende hasta el epitelio de unión	- Se extiende hasta el epitelio de unión.
- Puede penetrar en cemento.	- _____	- Puede invadir epitelio y tej. conect.
- Cálculo y caries radicular	- Asociada con gingivitis.	- Asociada con gingivitis y periodont.

Fig. 2. Clasificación subgingival de la placa.

Las alteraciones en la ecología de la placa, sobre todo una mayor anaerobiosis, conducen a cambios en las proporciones de sus especies constituyentes. En estos cambios se producen incrementos de: *P. gingivalis*, *A.A.*, *F. nucleatum*, *C. recta*, etc.

Los estudios realizados sobre la pared blanda de la bolsa demuestran la presencia a lo largo del epitelio, de signos de una fuerte respuesta del huesped con la presencia de leucocitos y de interacciones leucocito-bacteria. Áreas de destrucción tisular (hemorragia, ulceraciones).

La presencia de estas diferentes áreas sugieren que la pared blanda de la bolsa está constantemente cambiando como resultado de la interacción entre epitelio, placa asociada al epitelio, y factores del huesped. Esto puede ser importante para la colonización e invasión de ciertas bacterias específicas.

1.4.4. Microbiología de la enfermedad periodontal.

Complejidad del problema. (79,80)

Las dificultades encontradas en determinar los agentes etiológicos de la enfermedad periodontal pueden resumirse en dos. Dificultades técnicas y un inadecuado entendimiento de la patobiología de las distintas enfermedades periodontales. (Toma de muestra, 300-400 especies distintas, dificultades en tipificar las diferentes enfermedades periodontales, actividad-quiescencia, estado portador,etc.)

1.4.4.1. Teoría específica y no específica de la placa.(81)

Durante los últimos 100 años y en la búsqueda del agente etiológico causal podemos encontrar tres fases bien diferenciadas en el tiempo. (Fig. 3)

A) En la primera (1880 - 1930) se otorgaba gran importancia a la especificidad bacteriana en la etiología de la enfermedad (*fusobacteria*, *amoeba*, *espiroquetas* y *streptococcus*).

B) En la segunda etapa (1930 - 1970) se le dio una importancia no específica a los microorganismos.

C) En la tercera (1970 - actualidad) se reintroduce la posibilidad de especificidad bacteriana o complejos de organismos como agentes etiológicos.

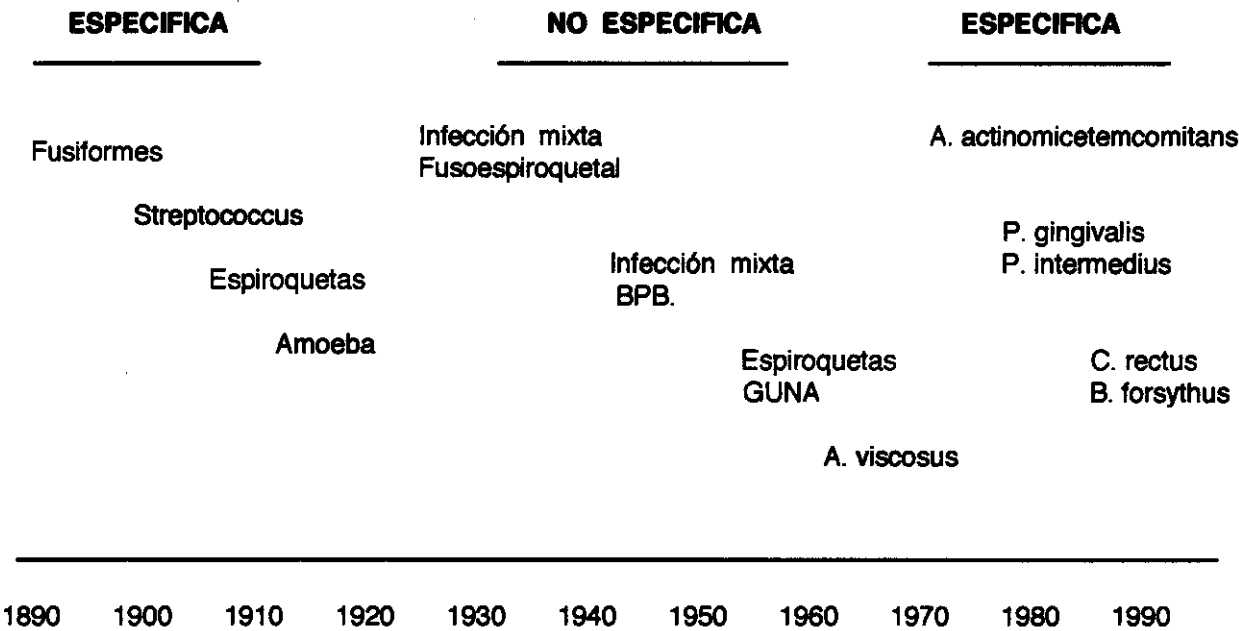


Fig. 3. Evolución de las teorías específica y no específica de la placa en los últimos 100 años.

De acuerdo con la versión clásica de la **teoría no específica**, (84) las bacterias orales indígenas en ausencia de higiene oral colonizan el surco gingival para formar la placa. Las enfermedades periodontales inflamatorias se desarrollan en el caso de que la proliferación bacteriana sobrepase el umbral de resistencia del huesped. Esta teoría, que relaciona la masa de placa con los cambios patológicos que ocurren en la enfermedad periodontal, propone que las características cualitativas de la microbiota tienen menor importancia y que es el volumen de placa más que la composición de la misma lo fundamental en la patogénesis de la enfermedad periodontal inflamatoria. No explica por qué algunos pacientes o localizaciones padecen gingivitis sin experimentar destrucción durante largo tiempo, mientras que otras desarrollan enfermedad periodontal destructiva lenta o rápidamente progresiva. La diferencia estaría, más que en la microbiología, en la respuesta del huesped.

Inicialmente la **teoría específica** (64,71,82,83,85-93) se basaba en que un único patógeno era el causante de la enfermedad, al igual que ocurría en el cólera o en la tuberculosis. La versión moderna de esta teoría (Socransky, 1977) sugiere que las distintas enfermedades periodontales estarían producidas no por una única bacteria sino que quizá de 6 a 12 bacterias pueden ser las responsables de la mayor parte de las enfermedades periodontales destructivas. El tratamiento estaría encaminado hacia la eliminación de patógenos específicos y la mejor medida preventiva sería aquella que previniera su establecimiento. (fig. 4)

	Teoría específica	Teoría no específica
<u>Etiología</u>	- Patógeno específico único.	- Todas las bacterias de la placa contribuyen.
<u>Tratamiento</u>	- Eliminar el patógeno. - Conseguir una placa no patógena.	- Eliminar la placa.
<u>Prevención</u>	- Prevenir la implantación del patógeno. - Implantar no patógenos.	- Control de placa.

Fig. 4. Teorías específica y no específica de la placa.

De acuerdo a la microbiología podemos clasificar las enfermedades periodontales:

1.- Gingivitis. La mayoría de los investigadores parecen estar de acuerdo en que la gingivitis es una reacción inflamatoria no específica, a un complejo de microorganismos

indígenas, que pueden variar enormemente en su composición de una persona a otra y de un sitio a otro sitio.

2.- G.U.N.A. Se puede considerar dentro del grupo de afectación específica donde podemos encontrar sobre todo: *Treponemas*, *Prebotella intermedius*, *Fusobacterium* y *Selenomonas*.

3.- Periodontitis de comienzo temprano. Quizá, junto con la anterior, sea el grupo de enfermedades que más se acercan a la hipótesis específica de la placa y sobre todo la periodontitis juvenil localizada, donde en un 90% de los casos podemos aislar A.A. (Slots, 1980).

4.- Periodontitis crónica del adulto. Es una reacción inflamatoria no específica, con una gran complejidad y variabilidad microbiológica. Varía de paciente a paciente con signos clínicos similares, de sitio a sitio en la misma boca, y en diferentes momentos en el mismo sitio.

1.4.4.2. Conceptos actuales. Criterios que definen a un periodontopatógeno. (94)

Todas las bacterias de la placa, más o menos, contribuyen en el potencial patogénico de la flora subgingival, ya que poseen alguno de los muchos factores de virulencia involucrados en la colonización, evasión de los mecanismos de defensa y producción de la inflamación y destrucción tisular. Las enfermedades periodontales no están causadas por patógenos exógenos, sino que por la colonización subgingival de miembros de la flora oral normal, que también están presentes en ausencia de enfermedad. Ciertas especies indígenas juegan un papel más importante que otras, debido a un aumento de estos tanto en valores absolutos como relativos y además tienen importantes factores de virulencia que alteran la defensa del huésped. Diferentes combinaciones de estos microorganismos pueden producir enfermedad en diferentes zonas dentro de un mismo individuo. Por otro lado tiene que haber un medio ambiente ecológico favorable para estas especies virulentas.

La prevención y el tratamiento es a base de control de placa, cambio en la ecología de la placa y reducir las especies más virulentas.

Hoy se sabe que estas especies más virulentas conocidas bajo el nombre de periodontopatógenos, son alrededor de 10: *Actinobacillus Actinomycetemcomitans*,

Porphyromona gingivalis, *Prebotella intermedius*, *fusobacterium Nucleatum*, *Bacteroides forsythus*, *Campilobacter recta*, *Eikenella corrodens*, *Capnocytophaga*, *Peptoestreptococcus micros* y *Espiroquetas*. Es necesaria la presencia de uno o más patógenos del clon adecuado y en suficiente número para causar enfermedad.

Criterios que definen a una bacteria como periodontopatógeno.

Hemos visto que si bien las bacterias son el factor etiológico principal en la enfermedad periodontal, debemos formular una serie de estrategias o de criterios para definir a una especie bacteriana como periodontopatógeno.

El método clásico para solucionar este problema, fue la utilización de los conocidos postulados de Koch (1883):

- 1) El agente debe ser aislado en cada caso de enfermedad.
- 2) El agente no debe encontrarse en otras enfermedades ni en sujetos sanos.
- 3) Después de aislar y cultivar el patógeno, este debe provocar enfermedad en animales de experimentación.

Sobre estos postulados hay que indicar que si bien fueron utilizados repetidas veces en investigación dental, el tercer criterio fue eliminado por Koch en 1884 cuando no pudo inducir cólera, utilizando *vibrio cholera* en el modelo animal. Por otro lado el reconocimiento del estado portador condujo a la eliminación del segundo en 1890.

Actualmente los investigadores en periodoncia han ampliado y modificado los postulados de Koch, de tal manera que se incluyen criterios de:

- 1) Asociación.
- 2) Eliminación.
- 3) Patogenicidad animal.
- 4) Respuesta del huésped.
- 5) Formación de factores de virulencia.

El criterio de asociación requiere que las especies patógenas sean más frecuentemente detectadas y a unos niveles de concentración más altos en sujetos enfermos que en control. Así estas especies deberían estar en mayor número y concentración en zonas en progresión, que en zonas sanas o que están estables o mostrando mejoría. El criterio de eliminación indica que el tratamiento debe influir tanto en el estado clínico como microbiológico. Debe disminuir el nivel de patógenos y frenar la progresión de la enfermedad. El fracaso en la

eliminación o disminución del nivel del patógeno, conlleva una posterior pérdida de inserción en ese sitio o sujeto. Referente al tercer criterio y a pesar de los problemas que conlleva el modelo animal (80), son de gran utilidad a la hora de valorar ciertas especies en la enfermedad (95-97) y definir factores de virulencia. En el cuarto criterio la asociación más importante ha sido la establecida entre el A.A. y anticuerpos específicos en periodontitis juvenil localizada. Y por último la habilidad de ciertas especies para producir factores de virulencia ha sido utilizada para valorar determinadas funciones o papeles de las bacterias en las enfermedades periodontales. Las 2 bacterias de las 10 mencionadas anteriormente, que mejor se pueden definir como periodontopatógenos de acuerdo a estos criterios, son el *actinobacillus actinomycetencomitans* y la *Porphyromona gingivalis*.

Sin embargo, está claro que si los patógenos periodontales son esenciales para producir la enfermedad, no son suficientes. Hay otra serie de factores que tienen un importante papel en la iniciación, progresión y remisión de las enfermedades periodontales destructivas. Lo primero es que el huésped tiene que ser susceptible (alteración de los neutrófilos, respuesta inmunológica inadecuada, SIDA, diabetes, tabaco, medicamentos, etc.). Lo segundo es la presencia de un medio ambiente ecológico adecuado. (Fig. 5).

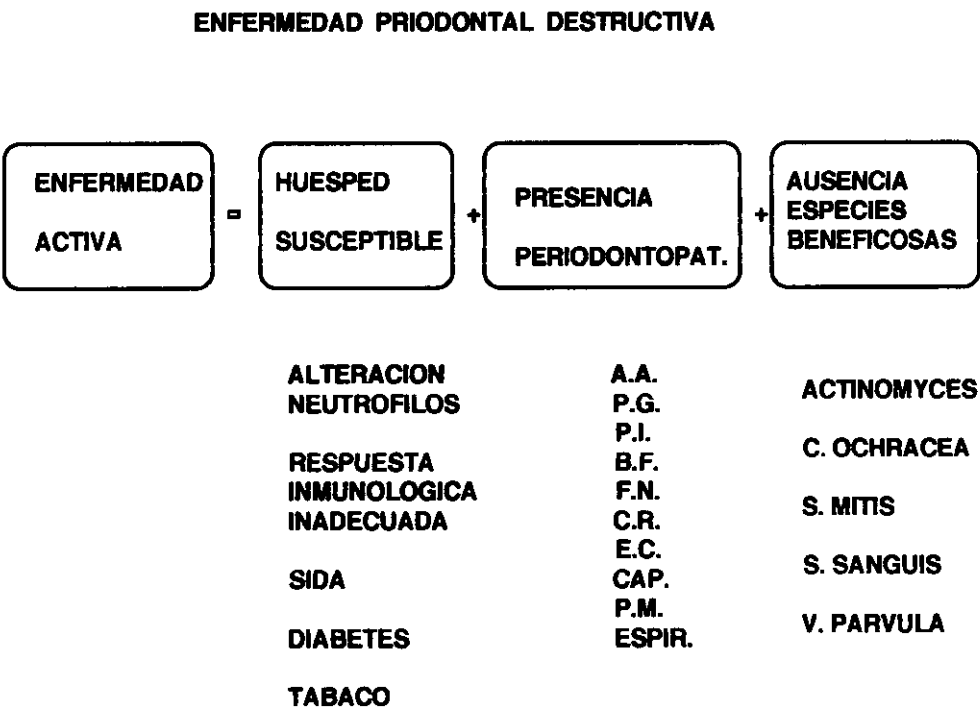


Fig. 5. Factores que intervienen en la enfermedad periodontal destructiva.

1.5. RESPUESTA DEL HUESPED

1.5.1. Introducción al sistema inmune.

La inmunología trata de aquellos mecanismos por los cuales los seres vivos se defienden frente a todo lo que les es extraño, fundamentalmente frente a microorganismos productores de infecciones. Se considera que la inmunología moderna nace con el descubrimiento por Jenner, a finales del siglo XVIII, de la posibilidad de "vacunar" contra la viruela mediante la inoculación del virus de la vacuna.

1.5.1.1. Características fundamentales del sistema inmune. (98)

La capacidad de discriminar entre lo propio y lo extraño y la facultad de reconocer unos antígenos de otros, constituyen junto con la memoria inmunológica las tres características fundamentales del sistema inmune. Estas tres propiedades dependen de las dos grandes poblaciones de linfocitos B y T. Ambas poseen en su superficie unos receptores responsables de este reconocimiento.

Realmente los linfocitos no reconocen la totalidad de la molécula de un antígeno, sino simplemente pequeños detalles que son llamados "determinantes antigénicos" o "epitopos". Los antígenos en general, y mucho más cuanto mayor es su molécula, poseen un número elevado de epitopos, frente a cada uno de los cuales responde un clon diferente de linfocitos. Incluso, en muchas ocasiones, frente a un mismo epitopo responderán varios clones aunque con diferente afinidad. Por eso se dice que la respuesta del sistema inmune frente a un antígeno es policlonal. En ocasiones un mismo clon es capaz de responder (con distinta afinidad) frente a dos epitopos distintos, aunque estructuralmente muy parecidos, hablándose entonces de una reactividad cruzada.

1.5.1.2.Bases celulares de la respuesta inmune. (99,100)

El sistema inmune se halla compuesto por los órganos linfoides, primarios y secundarios, y por los linfocitos y células del sistema mononuclear-fagocítico que se encuentran circulando por el resto del organismo.

En los órganos linfoides primarios (médula ósea y timo) es donde se diferencian y maduran las diferentes poblaciones de linfocitos. En los secundarios, constituidos por acúmulos de linfocitos maduros entremezclados con células del sistema mononuclear-fagocítico, es donde entran en contacto los linfocitos con los antígenos extraños, presentados por células accesorias, y donde se inicia por lo tanto la respuesta inmune. Los órganos linfoides secundarios son el bazo, los ganglios linfáticos y el tejido linfoide (difuso o formando folículos) distribuido a lo largo del tubo digestivo y aparato respiratorio. Los órganos linfoides están conectados entre sí por los vasos sanguíneos y linfáticos.

Los antígenos que penetran a través de la piel y mucosas son conducidos por los vasos linfáticos a los ganglios regionales, donde quedan atrapados. Allí son fagocitados por macrófagos y procesados para ser presentados a los linfocitos. En algunas ocasiones, los antígenos han sido ya captados por células del sistema mononuclear-fagocítico (macrófagos y células de Langerhans) en el lugar donde han penetrado y son estas las que los conducen por los vasos linfáticos hasta el ganglio.

Las células del sistema mononuclear-fagocítico del ganglio (fundamentalmente células dendríticas) son las encargadas de presentar el antígeno a los linfocitos. Por ello, estas células reciben la denominación de *células presentadoras de antígeno o células accesorias*. Esta presentación es necesaria para que los linfocitos T cooperadores puedan interactuar mediante sus receptores con el antígeno, y se inicie la respuesta inmune.

En cada órgano linfoide primario existen sólo células de la estirpe que se diferencia en él: linfocitos T en el timo y linfocitos B en la médula ósea. En los órganos linfoides secundarios existen células de ambas poblaciones en cantidades similares organizadas en zonas diferentes: zonas T dependientes (paracortical del ganglio y manguitos periarteriolas del bazo) y B dependientes (folículos linfoides). En la lámina propia de las mucosas se encuentran fundamentalmente linfocitos B aislados o formando folículos. En la piel, por el contrario, se encuentran linfocitos T ya que contienen un especial tropismo por este órgano.

En sangre periférica existe una relación entre linfocitos T y B de 8/1 aproximadamente. De entre los linfocitos T la mayoría son T4 (la relación T4/T8 es aproximadamente de 2/1).

Células del sistema inmune.

Las células principales del sistema inmune son aquellas que le confieren su especificidad y que inician la respuesta, son los linfocitos. Además también tienen gran importancia las células del sistema mononuclear- fagocítico que actúan en dos momentos: al comienzo de la respuesta como células presentadoras de antígeno al linfocito, y al final pues son activadas por productos que liberan los linfocitos en respuesta a su propia activación y actúan en la rama aferente de la respuesta participando en los mecanismos inflamatorios. Además de estos dos tipos de células, también otras, en general presentes en la circulación (basófilos, neutrófilos, eosinófilos), participan en la respuesta inmune en su rama efectora contribuyendo a los mecanismos inflamatorios encaminados a la destrucción y eliminación de los antígenos extraños.

Linfocitos T

Los linfocitos T se diferencian en el timo a partir de células progenitoras que llegan por la circulación sanguínea procedentes del hígado fetal o de la médula ósea. En el timo también se realiza la selección de los linfocitos T que van a poder salir a la periferia. Estos son aquellos capaces de reconocer antígenos unidos a antígenos de histocompatibilidad propios, posiblemente gracias a la presencia de estos últimos en la superficie de las células epiteliales del timo.

Esto haría que los receptores presentes en estos clones de linfocitos estuvieran claramente influidos por la conformación de los antígenos de histocompatibilidad propios, pero sin tener especificidad para ellos.

Durante su diferenciación los timocitos experimentan importantes cambios en la expresión de determinados antígenos en su superficie, los llamados *antígenos de diferenciación*. Estos pueden ser estudiados mediante anticuerpos monoclonales. Dado que se han obtenido, desde 1980, más de 1.000 de estos anticuerpos contra antígenos de diferenciación leucocitarios y que se han identificado más de 40 antígenos diferentes, se han

adoptado las iniciales CD (del inglés cluster of differentiation, es decir, grupo de diferenciación) seguidas de números para identificar a los diferentes antígenos. Los anticuerpos monoclonales que los reconocen, se agrupan y se denominan según el CD al que pertenece el antígeno. Los antígenos que aparecen en células de la estirpe T se encuentran agrupados fundamentalmente en dos grupos (CD1 a CD8 y CD25 a CD31). Los más importantes son:

- **CD2 (T11):** Es el antígeno presente en el receptor para los hematíes de carnero. Es el primer antígeno característico de los linfocitos T que aparece en su diferenciación y está presente en todos ellos (maduros o inmaduros).
- **CD1a (T6):** Presentes en timocitos inmaduros (corteza del timo).
- **CD3 (T3):** Presente solo en timocitos maduros (médula del timo) y en linfocitos T maduros de la periferia (sangre, linfa y órganos linfoides secundarios). El CD3 se encuentra unido en la superficie del linfocito T a las dos cadenas, alfa y beta, que forman el receptor para el antígeno constituyendo un complejo. Su presencia indica que el linfocito T es ya funcionalmente maduro y puede responder al estímulo antigénico.
- **CD4 y CD8 (T4 y T8 respectivamente):** Presentes juntos en timocitos inmaduros (CD6+ y CD3-) y por separado en los maduros, caracterizando cada uno de ellos a cada una de las dos grandes subpoblaciones de linfocitos T.

Aunque se han asociado estas dos grandes subpoblaciones de linfocitos T a funciones concretas (T4 a cooperación y T8 a citotoxicidad y supresión), no es totalmente exacto (p. ej.: existen linfocitos T4 citotóxicos) y la correlación es en realidad con el tipo de restricción HLA de las células.

Los linfocitos T4 cooperadores son los encargados de iniciar toda la respuesta inmune ya que su cooperación es necesaria tanto para la respuesta humoral (producción de anticuerpos por los linfocitos B) como para la celular (citotoxicidad o hipersensibilidad retardada mediadas por los linfocitos T). Incluso la activación de los linfocitos T supresores o de otras poblaciones celulares (células NK, macrófagos, etc.) que también pueden intervenir en la respuesta inmune depende en gran medida de los linfocitos T4. Los linfocitos T4 solo reconocen antígenos si estos son presentados por otra célula en unión de antígenos de histocompatibilidad de clase II (HLA-DR). Así pues, para que una respuesta inmune se inicie

es fundamental esta presentación del antígeno que muy pocos tipos de células pueden realizar, pues los antígenos HLA de clase II se encuentran presentes casi exclusivamente en los linfocitos B y en las células del sistema mononuclear fagocítico. Son estas últimas, las llamadas células presentadoras de antígenos, las encargadas generalmente de esta función.

Los linfocitos T8 citotóxicos también reconocen a los antígenos extraños sólo si estos van unidos en la superficie de otra célula, a antígenos codificados por el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). Es la llamada restricción MHC. En este caso, la unión del antígeno extraño ha de ser con antígenos de histocompatibilidad de clase I (HLA-a, HLA-B o HLA-C). Estos antígenos se encuentran presentes en casi todas las células del organismo (las únicas excepciones son los hematíes y las células del trofoblasto). Esta propiedad de los linfocitos T citotóxicos les hace dedicarse exclusivamente a destruir otras células, siendo fundamental su papel y por tanto el de la inmunidad celular en la eliminación de células tumorales, de transplantes, y en la defensa frente a microorganismos intracelulares. Una vez que el linfocito T8 citotóxico, se ha unido a la célula que va a destruir, se inician los siguientes pasos del proceso lítico, que según todos los indicios pasa por la secreción de moléculas citotóxicas previamente almacenadas en gránulos citoplasmáticos.

Todos los linfocitos T maduros presentes en el organismo poseen un receptor para el antígeno que ha sido identificado como un complejo compuesto por 5 cadenas. Dos cadenas variables (alfa y beta) que forman la unidad T_i o TCR (del inglés T cell receptor) y tres monomórficas (gamma, delta y épsilon) que forman el complejo T3 (o antígeno CD3).

El linfocito T en reposo tiene gran cantidad de estos receptores en su superficie. Su activación tiene lugar cuando estos receptores reconocen al antígeno unido a antígenos de histocompatibilidad propios. En el caso del linfocito T4 en reposo, también es necesaria la presencia de interleucina-1 (IL-1) (producida por el macrófago que presenta al antígeno). Entonces se produce la desaparición del receptor de la superficie, junto con la expresión de gran número de receptores para la interleucina-2 (IL-2), que no aparecían en la membrana del linfocito T en reposo. Además, la célula T4 comienza a producir IL-2. Al unirse un número suficiente de moléculas de IL-2 a los receptores para la IL-2, y solo entonces, es cuando comienza el linfocito T la síntesis de DNA y la proliferación celular. Finalmente, cuando cesa el estímulo antigénico hay una reexpresión de los receptores para el antígeno y simultáneamente una desaparición de los receptores para IL-2.

La unión entre el linfocito T y la célula que es reconocida por su receptor no se efectúa únicamente a través del TCR sino que en ella intervienen también otras estructuras presentes en la superficie del linfocito: el CD4 o el CD8 (según la subpoblación de que se trate), y las LFA (del inglés lymphocyte function associated antigens).

Linfocitos B

Son las únicas células del organismo capaces de producir inmunoglobulinas y se reconocen por la presencia de estas en su superficie. Todas las moléculas de inmunoglobulinas presentes en la membrana de una de estas células tienen la misma especificidad, ya que son producidas por la misma célula.

Los linfocitos B se diferencian a partir de células progenitoras en la médula ósea, pasando por diversos estadios. Primero estas células pluripotenciales de la médula ósea se transforman en células blásticas (las llamadas pre-pre-B) que se dividen rápidamente y en ellas tiene lugar la reordenación de los genes encargados de la producción de las cadenas pesadas de inmunoglobulinas. Estas células blásticas al dividirse dan lugar a los linfocitos pre-B, ya más pequeños y con cadenas "u" en su citoplasma. En estos se produce la reordenación de los genes responsables de la producción de las cadenas ligeras. Ya en las células pre-pre-B existen en la membrana antígenos HLA-DR junto con determinados antígenos de diferenciación, aún mal conocidos, que permiten su adscripción a la línea celular B. Esta presencia de HLA-DR y de antígenos de diferenciación de los linfocitos de estirpe B es aún más evidente en los linfocitos pequeños pre-B, que además pueden ser reconocidos por la existencia de cadenas pesadas "u" en su citoplasma. Durante estos primeros estadios de diferenciación de los linfocitos de estirpe B existe muy probablemente una importante pérdida de células debido a la deficiente reordenación de los genes que van a codificar las inmunoglobulinas.

La aparición de inmunoglobulinas en la membrana celular define el linfocito B. Al principio únicamente se expresa IgM, lo que caracteriza al linfocito B inmaduro. Poco después aparecen IgD y receptores para componentes del complemento y para el fragmento Fc de la IgG. Estos linfocitos B salen rápidamente de la médula ósea y pasan a los órganos linfoides secundarios. Dado que la vida media de los linfocitos B es mucho menor, en líneas generales, que la de los linfocitos T, la producción y posterior migración de los mismos es continua.

Una de las características más sobresalientes de los linfocitos B inmaduros, que solo poseen IgM en su superficie, es que la interacción de esta, que actúa como receptor, con el antígeno conduce fácilmente a la inactivación de la célula, lo que puede constituir uno de los mecanismos que posibilita la tolerancia inmunológica, a través del fenómeno llamado "*aborto clonal*". Los linfocitos maduros en sangre y presentes en los órganos linfoides secundarios poseen fundamentalmente IgM e IgD en su superficie de forma simultánea, además de HLA-DR, siendo muy escasos los que presentan otras inmunoglobulinas (IgG e IgA) en su membrana.

Hasta aquí las etapas de diferenciación de los linfocitos B son independientes de la presencia de antígeno. Pero la misión de esta célula es la de transformarse en célula plasmática productora de anticuerpos. Cuando un antígeno extraño entra en el organismo va a elegir entre todos los clones de linfocitos B, interaccionando y activando solo aquellos para los que tiene mayor afinidad. Esta interacción es necesaria pero no suficiente para iniciar la segunda etapa de la diferenciación del linfocito B, la etapa dependiente de antígeno. En ella se puede considerar que existen tres fases. La primera sería la fase de activación por unión de varias moléculas de Ig de su superficie al antígeno (con la formación de puentes entre ellas) o anti-Ig. Además de este estímulo inicial se necesita la participación de dos tipos de factores, producidos por los linfocitos T, que facilitan la proliferación y diferenciación de los linfocitos B. Son los llamados factores de crecimiento de los linfocitos B ("*BCGF*", del inglés *B cell growth factor*) y factores de diferenciación de los linfocitos B ("*BCDF*", del inglés *B cell differentiation factor*). A lo largo de esta evolución a células plasmáticas, los linfocitos B, previamente productores casi todos de IgM, cambian la región constante de la cadena pesada (es el llamado *switch*) y pasan a producir IgG o IgA, siempre con las mismas regiones variables, responsables del reconocimiento antigénico. Sin embargo, además del *switch*, que supone una reordenación de los genes que codifican la molécula de inmunoglobulina, durante la rápida proliferación de los linfocitos B en su respuesta al antígeno aparecen con gran frecuencia mutaciones somáticas que pueden alterar la especificidad del reconocimiento antigénico de algunas células derivadas del clon. De entre ellas el antígeno seguirá seleccionando las de mayor afinidad, para seguir activándolas, aumentando así la afinidad de la respuesta.

Al transformarse el linfocito B en célula plasmática perderá los receptores para el Fc de la IgG, para el complemento y también la inmunoglobulina de superficie y sus antígenos de diferenciación característicos, adquiriendo otros propios de la célula plasmática. No todos los linfocitos B activados se transforman en células plasmáticas, ya que algunos pasan a un

estadio de linfocito pequeño maduro, la célula de memoria, que gozará de la capacidad de respuesta más rápidamente a un nuevo estímulo antigénico (respuesta secundaria).

Células Natural-killer (NK) y ADCC. (Linfocitos no-B no-T).

En sangre periférica existe un pequeño porcentaje de linfocitos (alrededor de un 5%) que no presentan las características fenotípicas de los linfocitos B ni T. Estos constituyen una población heterogénea que, además de contener algunos precursores linfoides, está constituida mayoritariamente por los llamados linfocitos grandes granulares ("LGL", *large granular lymphocytes*). Estas células tienen función citotóxica: bien la llamada citotoxicidad natural (células NK, *natural killer*), bien la denominada citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC), siendo entonces llamadas células K. Muchos de estos linfocitos no-B no-T poseen simultáneamente actividad NK y ADCC.

La citotoxicidad natural es la capacidad que tienen estas células de lisar a ciertas poblaciones celulares sin mediar un reconocimiento antigénico y por tanto sin una inmunización previa. A diferencia de la citotoxicidad producida por los linfocitos T, esta no tiene restricción MHC, no hay una especificidad de cada clon para un determinado antígeno, y tampoco existe, por tanto, memoria inmunológica, siendo igual de eficaz la destrucción en el primer encuentro con las células diana que en los posteriores. Las células que pueden ser destruidas han de tener, sin embargo, ciertos determinantes comunes reconocidos por algún tipo de receptor de la célula NK, cuyas características por el momento se ignoran. Mediante el clonaje de células NK se ha podido deducir la existencia de varias subpoblaciones, posiblemente con estructuras de reconocimiento diversas. Los determinantes reconocidos por estas estructuras parecen estar fundamentalmente en la superficie de las células tumorales y de células infectadas por virus, ya que son ellas en particular las destruidas por este mecanismo.

La citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) está producida por células que, por poseer un receptor para el Fc de una inmunoglobulina (probablemente solo de IgG) son capaces de unirse y de lisar aquellas células a las que se haya unido un anticuerpo de esa clase. Este tipo de citotoxicidad es característico de las llamadas células K (de aspecto linfoide, aunque sin fenotipo de células B ni T), pero también puede ser realizado por otras poblaciones celulares que tienen receptores para el Fc de la IgG (macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, etc.).

Células del sistema fagocítico (99,100)

La primera línea de defensa frente a la infección está representada por las células fagocíticas a través de un proceso que en conjunto se conoce como fagocitosis, mediante el cual estas células tratan de ingerir y eliminar los microorganismos infectantes.

Su importancia en la defensa del organismo ha sido aceptada desde los estudios realizados por Metchnikoff en 1893; a partir de entonces los progresos en el conocimiento de estas células con capacidad de fagocitosis (fagocitos) se han sucedido de forma ininterrumpida, si bien ha sido en los últimos 20 años cuando realmente se intensifican las investigaciones sobre este sistema, resultando de todo ello en la actualidad un mejor conocimiento de la biología, fisiología y bioquímica de las células fagocíticas, de las implicaciones de su actividad y la descripción de numerosas anomalías de las mismas.

Las células fagocíticas incluyen a los microfagos: granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) y a los macrófagos: células del sistema mononuclear (monocitos y macrófagos).

Los granulocitos polimorfonucleares neutrófilos (PMN) son inicialmente las células cuantitativa y cualitativamente más importantes del sistema de fagocitosis, debido a su rápido desplazamiento durante la inflamación al lugar de la infección, así como a su gran actividad fagocítica y capacidad de destrucción de microorganismos. En una segunda fase adquieren un protagonismo mayor las células fagocíticas mononucleadas.

Las células fagocíticas se originan en la médula ósea y son el resultado final de una secuencia de hechos de maduración y diferenciación celular bien caracterizados. Todas ellas derivan de una sola célula madre mieloide conocida como CFU-G/M (unidad formadora de colonias granulocito/monocito), procedente a su vez, de una célula madre hematopoyética pluripotencial (CFU-S). La célula mieloide CFU-G/M, presente en un 90-95% en médula ósea, se diferencia posteriormente hacia las dos líneas progenitoras de las células fagocíticas; granulocitos (neutrófilos, basófilos y eosinófilos) y células fagocíticas mononucleares (monocitos-macrófagos). (Fig. 6).

La proliferación de CFU-G/M y su diferenciación irreversible hacia la producción de la serie granulocítica y monocítica están reguladas al menos por dos factores: el GM-CSF

(que actúa sobre los precursores de la serie granulocítica y monocítica conjuntamente) y el M-CSF (que lo hace solamente sobre los fagocitos mononucleares).

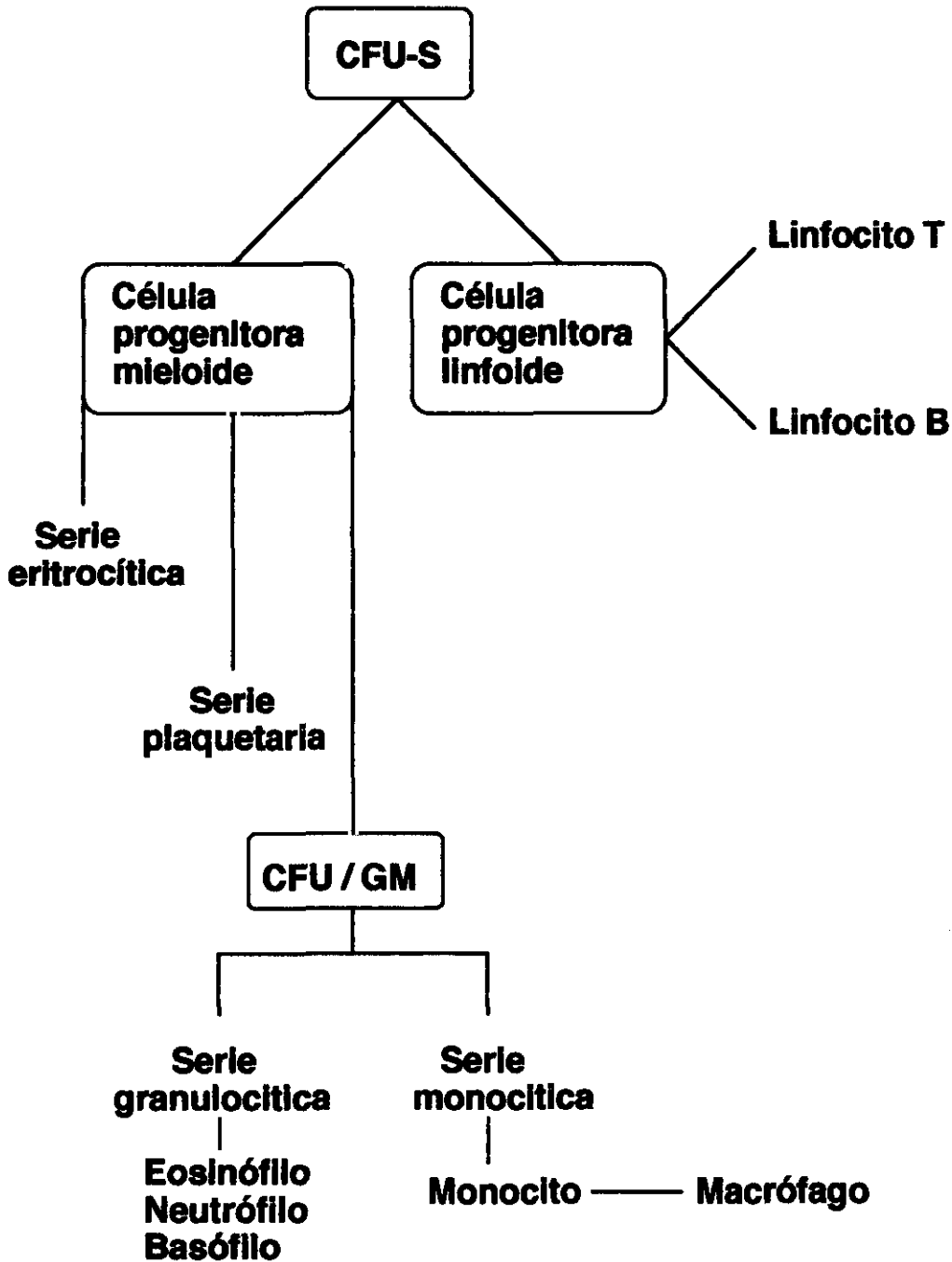


Fig. 6. Proliferación y diferenciación de la unidad formadora de colonias granulocito/monocito (CFU-G/M).

Los polimorfonucleares tienen una vida media muy corta. Su proceso de maduración dura cerca de dos semanas, constituyendo el período más largo de su vida. Su supervivencia en la circulación es a penas de seis a siete horas, con una tasa de recambio y producción muy elevadas. La vida media de los monocitos es de varias horas, pudiendo, sin embargo, permanecer los macrófagos en los tejidos por espacio de meses.

A medida que las células van diferenciándose adquieren una mayor capacidad de defensa. Su proceso de maduración les permite ejercer correctamente la función fagocítica; en el citoplasma aparece un citoesqueleto compuesto por microtúbulos y microfilamentos que facilita su movilidad, y se acumula gran cantidad de glicógeno, que les sirve de soporte energético. El núcleo se segmenta, favoreciendo la deformibilidad celular, y por tanto, su movilidad. En la membrana aparecen receptores específicos para C3b, fracción Fc de IgG, ciertas lectinas y formil-metionil-péptidos. Un hecho característico de los granulocitos es la acumulación en su citoplasma durante el proceso de maduración de gran cantidad de enzimas lisosomales contenidas en diferentes gránulos (Fig. 7); los gránulos azurófilos o primarios y gránulos específicos o secundarios. Los gránulos azurófilos aparecen en la fase de diferenciación, observándose en los promielocitos; contienen una serie de enzimas líticas importantes para la destrucción de las partículas ingeridas, que incluyen *hidrolasas ácidas*, *proteinasas neutras*, *lisozima*, así como la enzima no hidrolítica, *mieloperoxidasa* (MPO). Los gránulos secundarios se forman durante la fase de maduración, en los mielocitos; son tres veces más numerosos que los primarios y contienen *lactoferrina*, *lisozima*, *colagenasa* y *proteínas unidas a la vitamina B12*. Estos gránulos descargan a menudo su contenido en el exterior de la célula, regulando en cierto modo el proceso inflamatorio.

Mediante experimentos de sedimentación diferencial ha podido observarse en el citoplasma de los granulocitos humanos un tercer acúmulo de sustancias de composición bastante heterogénea. Estas estructuras, de tamaño menor que los gránulos descritos, contienen también *hidrolasas ácidas*, incluyendo grandes cantidades de *catepsina B* y *D*, una *proteínasa-3*, así como *gelatinasa* (una *metil-proteínasa*).

Los fagocitos mononucleares contienen igualmente, y segregan durante su actuación, enzimas lisosomales, como *lisozima*, *hidrolasas*, *proteinasas*, *colagenasa*, *elastasa*, *activadores del plasminógeno*, etc. Además los macrófagos activados liberan una serie de sustancias conocidas en conjunto como monoquinas, mediante las que se interrelacionan con diversas células del sistema inmunológico.

Los polimorfonucleares se liberan a la circulación sanguínea como fagocitos maduros altamente diferenciados, mientras que los monocitos pasan al torrente circulatorio como células aún inmaduras.

Localizac. de enzimas y otros componentes en los gránulos y organelas de las c. fagocíticas

Tipo de componente	Gránulos azurófilos	Gránulos específicos	Organelas
Enzimas bactericidas	Mieloperoxidasa Lisozima	Lisozima	
Proteinasas neutras	Elastasa Catepsina-G Proteinasa-3	Colagenasa	Gelatinasa Activador del plasminógeno
Hidrolasa ácidas	N-acetil-B-glucosaminidasa Catepsina B Catepsina D Beta-glucoronidasa Alfa-manosidasa Beta-glicerofosfatasa		N-acetil-glicosilasa Catepsina B Catepsina D Beta-glucoronidasa Alfa-manosidasa
Otros		Lactoferrina Proteínas unidas a vitamina B12	

Fig. 7. Componentes de las células fagocíticas.

De manera esquemática las células fagocíticas ejercen su función a través de etapas desarrolladas de manera secuencial y que en síntesis son las siguientes:

- Desplazamiento de las células desde el lecho vascular al lugar de la inflamación mediante un movimiento espontáneo o por un movimiento quimiotáctico en respuesta a sustancias atrayentes que actúan sobre receptores específicos de la célula. Ello requiere una adherencia y deformabilidad celular previas.

- Reconocimiento de las partículas como ajenas al organismo a través de receptores presentes en la membrana y mediante los cuales las células fagocíticas establecen puentes de unión para posteriormente envolver completamente las partículas correctamente opsonizadas. Dicho proceso culminará con la interiorización de la partícula o fagocitosis propiamente dicha.

- Destrucción de los microorganismos ingeridos por medio de la actuación de mecanismos enzimáticos y metabólicos celulares.

Las células del sistema mononuclear fagocítico salen de la médula como monocitos y van a localizarse en los diferentes tejidos donde adoptan las características y el nombre de macrófagos hísticos. Estos sufren diferentes grados de diferenciación y especialización, en función del tejido en el que se hallan y los estímulos recibidos. El macrófago hístico no estimulado o "residente" guarda todavía una cierta semejanza con el monocito por su morfología, y su capacidad funcional es aún limitada, aunque es potencialmente capaz de realizar funciones muy diversas:

- Citotoxicidad directa de células tumorales.
- Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo.
- Quimiotaxis.
- Fagocitosis.
- Muerte intracelular de microorganismos.
- Procesamiento y presentación del antígeno.

En general se llama macrófago activado aquel que es capaz de destruir todo tipo de microorganismos intracelulares y/o lisar células neoplásicas. Hoy sabemos que este término "macrófago activado" no indica una única vía de maduración sino que dependiendo del tipo de estímulo y el ambiente en que se halla, esta célula va a adquirir unas u otras propiedades. A los macrófagos que han desarrollado cualquiera de ellas (destrucción de parásitos intracelulares, citotoxicidad de células tumorales, ADCC) se les debe denominar macrófagos activados, aunque estén preparados solo para realizar una de ellas.

Entre estos dos extremos de macrófago hístico en reposo y totalmente activado hay una serie de estadios intermedios en los que el macrófago ya ha recibido ciertos estímulos y modificado sus características funcionales. (Fig. 8)

Grados de activación de los macrófagos y capacidad funcional

Residente o en reposo	Inflamatorio o respondedor	Activado por linfocinas	Totalmente activado
Quimiotaxis Fagocitosis Proliferación	Quimiotaxis Fagocitosis Proliferación	Unión a células tumorales Presentación Ag Proliferación	Bactericida Tumoricida Presentación Ag No proliferación

Fig. 8 Diferentes grados de activación de los macrófagos.

El primero de ellos es el macrófago que se encuentra inmerso en una respuesta inflamatoria. Allí hay sustancias activas que interaccionan con receptores presentes en la membrana y hacen que estos macrófagos "inflamatorios" o "respondedores" aumenten considerablemente su capacidad fagocítica y su quimiotaxis. El otro estadio intermedio es el del macrófago existente en los procesos inflamatorios mediados por mecanismos inmunológicos. Estos han estado expuestos también a linfocinas (fundamentalmente a interferón gamma) además de a las otras sustancias a las que han sido expuestos los macrófagos "inflamatorios". Desarrollan la capacidad de presentar antígenos de forma eficiente y la de unirse selectivamente a células tumorales. La diferencia entre este grado de activación y el macrófago totalmente activado existe, pero es ya muy sutil, pues estas células son muy susceptibles a una segunda señal (como por ejemplo, mínimas concentraciones de endotoxina) que los transforman en macrófagos totalmente activados, capaces no solo de unirse a células tumorales, sino también de lisarlas, y asimismo destruir parásitos extracelulares.

1.5.1.3. Interacciones celulares en la respuesta inmune

La respuesta inmune está integrada por complicados mecanismos, con delicados sistemas de control y regulación interna, para conseguir una máxima eficacia en la eliminación de antígenos extraños que hayan penetrado en el organismo, procurando no dañar a los tejidos propios.

Esto obliga fundamentalmente a la interacción entre diversas poblaciones celulares, que se transmiten mensajes a través del reconocimiento de estructuras en su superficie y/o la liberación de factores solubles. La respuesta inmune se inicia con la captación del antígeno por una célula accesoria y su presentación al linfocito T4 en unión de un antígeno de histocompatibilidad de clase II. La célula presentadora del antígeno al entrar en contacto con el linfocito T4 en el momento de realizar esta función libera un factor llamado interleucina-1 (IL-1) necesario también para la activación del linfocito.

El linfocito T4, al recibir estas dos señales (interleucina-1 y reconocimiento del antígeno unido a HLA-DR), comienza a producir otro factor soluble, el factor del crecimiento de células T o interleucina-2 (IL-2). Este factor va a estimular el crecimiento de los linfocitos T (T4 o T8) que previamente interaccionen con un antígeno para el cual tengan especificidad. En efecto, los linfocitos T en reposo no poseen receptores para la IL-2 y por tanto no pueden ser estimulados por ella, pero sí los desarrollan al ser activados por un antígeno (siempre junto a antígenos propios codificados por el MHC, de clase I en el caso de los linfocitos T8 y de clase II en el caso de los linfocitos T4). Así mediante la IL-2 se establece la cooperación entre linfocitos T4 cooperadores y otras subpoblaciones de linfocitos T (linfocitos T8 citotóxicos, linfocitos T8 supresores, y también otros linfocitos T4 como los encargados de la hipersensibilidad celular).

También son linfocitos T4 los responsables de la cooperación en la respuesta humoral. Esto lo realizan produciendo y liberando factores en respuesta a la estimulación del antígeno, que van a hacer proliferar y diferenciarse a los linfocitos B. Son los factores de crecimiento y diferenciación de los linfocitos B (BCGF y BCDF, respectivamente). Como en el caso de los linfocitos T efectores, los linfocitos B en reposo no tienen receptores para estos factores, y es solo tras la interacción con el antígeno cuando expresan los receptores para el BCFG y más adelante, tras la acción de este factor, cuando aparecen en su superficie los receptores para el BCDF. (Fig. 9)

Todos estos factores solubles, llamados linfocinas, tienen una vida media muy corta y un radio de acción muy reducido, por lo que solo son capaces de estimular a linfocitos que se encuentren en sus proximidades y que a la vez hayan sido activados por el antígeno. Esto hace que la respuesta humoral o celular que se desarrolle sea específica (es decir; solo intervengan en ella los linfocitos que hayan reconocido a los antígenos que la han provocado) pese a que estas linfocinas no tienen especificidad para el antígeno.

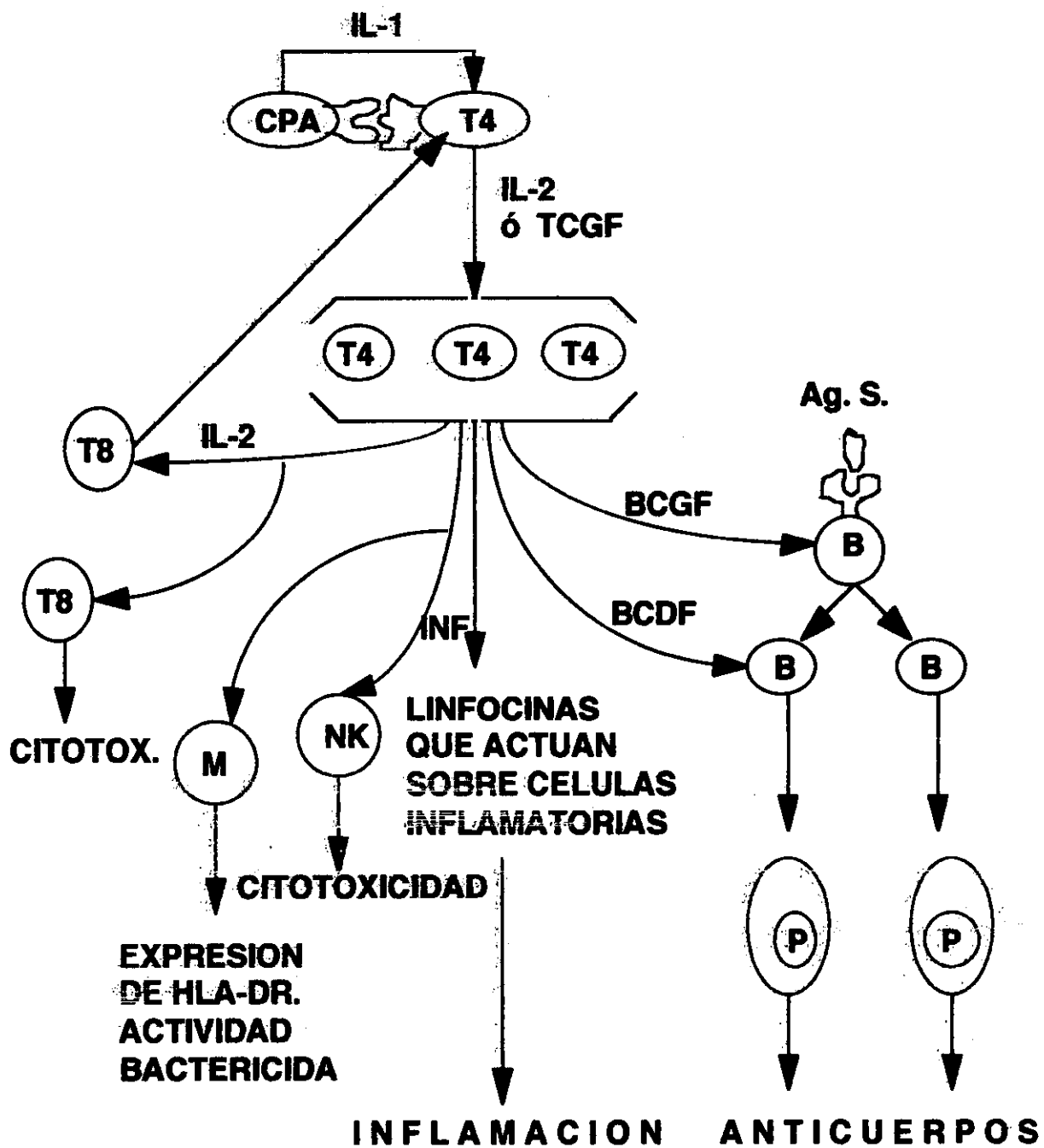


Fig. 9. Interacciones celulares en la respuesta inmune. Inmunorregulación.

1.5.1.4. Avances recientes en inmunobiología (101,102)

La investigación en estos últimos años en el campo de la inmunología, están provocando una verdadera revolución en el manejo y resolución de muchas enfermedades humanas. Por otro lado sabemos que la comprensión y entendimiento de la respuesta del huésped es crítica para el conocimiento de la enfermedad periodontal.

Los avances más importantes logrados en inmunología durante estos últimos años se pueden esquematizar en dos epígrafes: Moléculas de superficie de las células reguladoras y moléculas efectoras.

Moléculas de superficie de las células reguladoras

Las interacciones entre las células inmunes, no sólo están reguladas por moléculas efectoras tales como las inmunoglobulinas y citoquinas, sino que también por un complejo, pero esquisitamente regulado, grupo de moléculas que se encuentran en la superficie de las células que intervienen en la respuesta inmune. Hay 4 tipos de moléculas de superficie: 1) Moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). 2) Antígenos de diferenciación (CD). 3) Receptores de superficie celular. 4) Adhesinas.

1) Complejo mayor de histocompatibilidad (MHC).

Cuando los tejidos de un individuo son transplantados a otro generalmente se rechazan. Este rechazo es producido por antígenos del donante que difieren de los antígenos del receptor. Estos antígenos van a determinar si un tejido será inmunológicamente compatible con un individuo y se denominan antígenos de histocompatibilidad, agrupados en lo que se llama complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). Su función no radica únicamente en la destrucción, sino que intervienen de forma importante en la presentación de los antígenos a los linfocitos T. MHC es un nombre genérico para todos los vertebrados, sin embargo en cada especie tiene un nombre diferente. En humanos se denomina antígeno del leucocito humano (HLA). En el ratón, complejo de histocompatibilidad-2 (H-2). En humanos el HLA se encuentra codificado por un complejo de genes en los cromosomas 6 y 15. Se divide en 2 clases (I y II); cada una de estas clases tiene dos subclases (alfa y beta). Las subclases son a su vez divididas en familias y subfamilias, designadas por letras capitales. (Por ej. MHC de clase II, subclase alfa, familias DP, DQ, DR y DN y subfamilias 1, 2, etc.). En general, los antígenos MHC de clase I se encuentran en casi todas las células y los de

clase II en células presentadoras de antígenos (macrófagos, células dendríticas de los folículos linfoides, células de Langerhan's de la piel y mucosas y linfocitos B.

Ya que el MHC ejerce control sobre la respuesta inmune, no es sorprendente que haya asociaciones de ciertas enfermedades con tipos de MHC. Quizás uno de los ejemplos mejor conocido es el de la espondilitis anquilopoyética en la cual el 90% de los pacientes son portadores del antígeno HLA-B27, mientras que solo el 9,4 % de los controles son portadores. Otras enfermedades asociadas con algún HLA específico incluyen: Diabetes insulín dependiente, artritis reumatoide, enfermedad de Hodgkin, etc.

2) Antígenos de diferenciación.

Estos antígenos son extremadamente útiles para diferenciar las diferentes poblaciones leucocitarias (células humanas inmunes). Por ejemplo, antígenos CD2 y CD3 están presentes en casi todos los linfocitos T y ausentes en los linfocitos B, por lo que anticuerpos monoclonales frente a CD3 son útiles para diferenciar la estirpe T de la B. La función de muchos de los CD ha sido descrita y varía enormemente. El CD21 funciona como un receptor para el complemento y también como receptor para el virus de Epstein-Barr. El CD4 localizado en los T-helper es un coreceptor para los MHC de clase II, y también un receptor para el virus de la inmunodeficiencia humana. El CD8 localizado sobre las células T-citotóxicas es un coreceptor para los MHC de clase I.

3) Receptores celulares específicos.

Son receptores que se unen de manera específica a otras moléculas y como consecuencia se induce diferenciación celular o produce algún producto. Todos los linfocitos T expresan un receptor llamado, receptor de las células T (TCR), una glicoproteína que liga antígenos y moléculas MHC. Mediante técnicas bioquímicas y genéticas, se demostró la existencia de 2 tipos de TCR. Uno compuesto por dos cadenas (alfa y beta), se encuentra en el 90% de los linfocitos T4 y T8 en sangre periférica. El otro TCR está formado por dos cadenas, gamma y beta. Ambos son de estructura parecida y están expresados en la superficie celular en asociación con el antígeno CD3. Además las células inmunes tienen otros receptores: Para citoquinas, inmunoglobulinas (para el fragmento Fc), complemento, etc.

4) Adhesinas.

Muchas interacciones celulares dependen de la unión de unas células a otras, o a un substrato. Estas interacciones son controladas por receptores de superficie en las células

inmunes y ligandos sobre otras células o sobre el sustrato, llamados moléculas de adhesión. Hay 4 grupos principales de moléculas de adhesión: a) Integrinas. b) Moléculas de adhesión de la familia inmunoglobulina-supergene. c) Moléculas de adhesión lectina-like (selectinas). d) CD44 o grupo Hermes. Las moléculas de adhesión están ampliamente distribuidas, no solo entre las células inmunes, sino sobre otros tipos celulares, incluyendo las células endoteliales. Datos experimentales soportan la hipótesis de que las selectinas actúan en el contacto inicial entre el leucocito y el endotelio, e intervienen en el enrollamiento de las células sobre la superficie endotelial. La adhesión fuerte de neutrófilos al endotelio y la migración depende de unas moléculas llamadas integrinas.

a) Integrinas.

Las integrinas son una familia de moléculas en donde cada miembro es un heterodímero compuesto por una cadena alfa y una beta. Actualmente, la superfamilia de integrinas puede ser dividida en tres familias con proteínas en cada familia con solo un tipo de cadena beta. La familia receptor de fibronectina comparte la cadena beta-1, la familia receptor para el complemento comparte la cadena beta-2, y la familia receptor para la vitronectina comparte la cadena beta-3. Las integrinas tienen cadenas alfa que son únicas. Las integrinas de cadena beta-1 fueron inicialmente clasificadas como antígenos que se forman después de varias semanas de estimular a los linfocitos T "in vitro" y se denominan VLA (del inglés "*very late antigens*"). Los ligandos son en su gran mayoría componentes extracelulares, y varían para las diferentes VLA integrinas; estos incluyen colágeno para la VLA-2, laminina para la VLA-3, fibronectina para la VLA-4, vitronectina para la VNR. Otras integrinas también varían en sus ligandos, C3bi para CR3 y CR4, e ICAM-1 e ICAM-2 (del inglés "*intercellular adhesion molecules*") para LFA (del inglés "*lymphocyte function-associated antigen*"). **Las integrinas beta-2 (=CD18): LFA (LFA-1=CD11a/CD18), CR3, CR4, Mac-1 (CD11b-CD18) y gp 150,95 (CD11c/CD18)** son importantes en el control del movimiento celular a los tejidos y contribuyen en las interacciones linfocitarias con la célula. **LFA -1** se definió originalmente como un antígeno funcionalmente importante y presente sobre las membranas de los linfocitos T citotóxicos. Posteriormente este receptor fue encontrado también sobre linfocitos en reposo, linfocitos B, leucocitos polimorfonucleares, monocitos y macrófagos. Es un complejo glicoproteico involucrado en la muerte mediada por linfocitos T, en la respuesta celular T4, muerte natural y citotoxicidad celular anticuerpo dependiente. También la reacción leucocitaria mixta y tanto la adhesión como la fagocitosis de los leucocitos polimorfonucleares y monocitos puede bloquearse por anticuerpos frente al LFA-1. El **Mac-1 humano**, el cual es idéntico al antígeno definido como OKM-1, se expresa sobre monocitos, macrófagos, leucocitos polimorfonucleares y linfocitos grandes granulares (células NK y ADCC). Está asociada con el receptor C3bi y

promueve la fagocitosis y muerte intracelular de microorganismos C3-opsonizados. También interviene en la adherencia, difusión, agregación, quimiotaxis y citotoxicidad dependiente de anticuerpo de los leucocitos polimorfonucleares. La **gp 150,95**, está expresada sobre monocitos, macrófagos, leucocitos polimorfonucleares y linfocitos y está involucrada en la adherencia y agregación de los granulocitos. Por otro lado, las integrinas beta-1 y beta-3 están involucradas en el movimiento celular a través de los tejidos y su retención en los mismos.

b) Moléculas de adhesión de la familia inmunoglobulin-supergene.

ICAM-1 e ICAM-2 son ligandos para las integrinas beta-2 LFA. Ambos están presentes sobre el epitelio de capilares, mientras que el ICAM-1 se expresa también sobre las células T y B, y probablemente actúa en la interacción entre linfocitos y células presentadoras de antígeno. ICAM-1 es importante en la migración transendotelial de las células y puede ser inducido por TNF, IL-1 e INF-gamma. (Fig. 10 y 11)

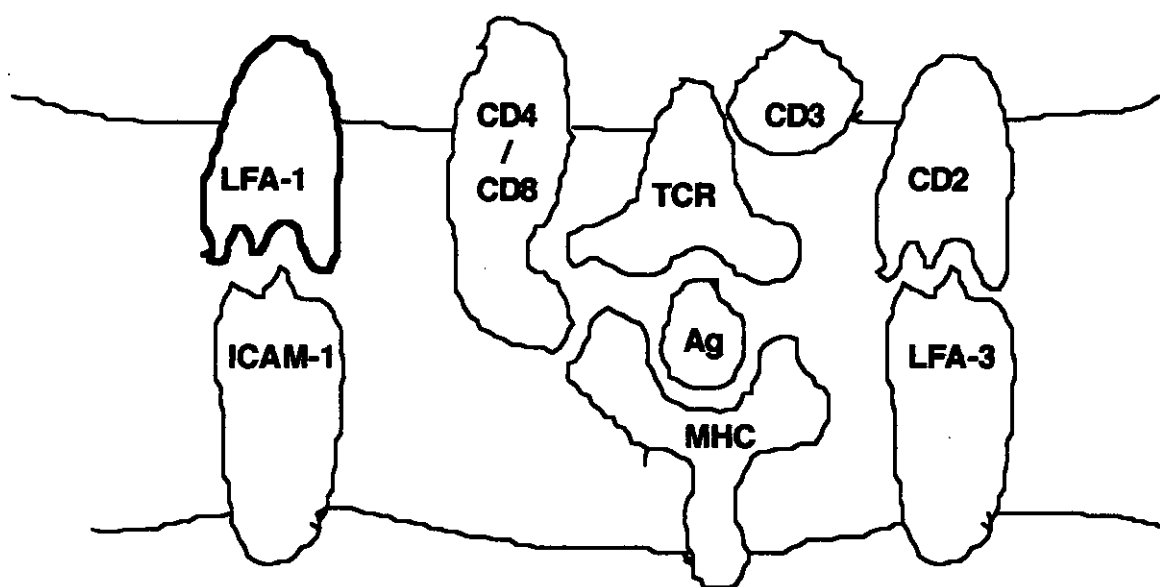
c) Selectinas (moléculas de adhesión lectin-like).

Moléculas denominadas MEL-14, GMP-140 y ELAM (del inglés "*endothelial/leukocyte adhesion molecule*"). ELAM es inducido sobre el endotelio tras la activación por TNF o IL-1. Los neutrófilos se unen a ELAM como un primer paso en la migración de neutrófilos a través del endotelio capilar.

d) Receptores mensajeros CD44 y sus ligandos, adresinas vasculares.

Se encuentran sobre linfocitos, e intervienen en la unión de estos al endotelio de las vénulas en los nódulos linfáticos periféricos. Los ligandos se denominan adresinas.

LINFOCITO - T



CELULA PRESENTADORA DE ANTIGENO

Fig. 10. Interacción entre el linfocito T y la célula presentadora de antígeno.

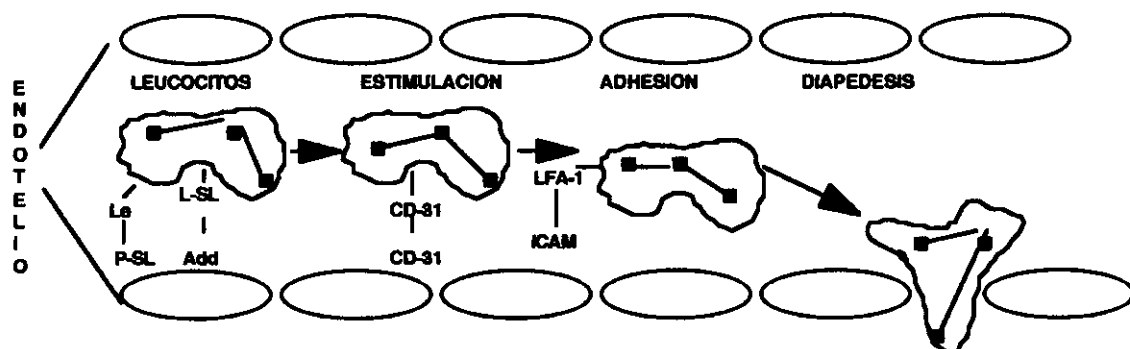


Fig. 11. Migración del neutrófilo dentro y a través del endotelio del capilar.

Moléculas efectoras.

El reconocimiento de los antígenos y células tumorales que invaden el organismo, es esencial como primer paso para la eliminación de los mismos. Una vez reconocidos, los sistemas inmunes efectores se ponen en marcha, lo cual conduce a una serie de reacciones cuyo fin es la eliminación del cuerpo extraño. Los sistemas efectores lo constituyen: Células (fagocitos y células T citotóxicas) y moléculas efectoras (Inmunoglobulinas, sistema del complemento, citoquinas, metabolitos del ácido araquidónico, factor activador de plaquetas, aminas bioactivas como histamina, mediadores péptidos como kininas, mediadores proteicos como enzimas, etc.).

1) Inmunoglobulinas.

Hace varias décadas los inmunólogos, cuando inyectaban antígenos a un animal, se producía un incremento en la cantidad de proteínas, en la fracción gammaglobulina, lugar donde residía la actividad anticuerpo. No todas las gammaglobulinas son anticuerpos, sin embargo, y para distinguir las globulinas con acción anticuerpo del resto, se introdujo el término inmunoglobulinas. Las inmunoglobulinas se dividen en clases y subclases. Hay 5 clases: IgA, IgM, IgG, IgD e IgE. La clase IgG se divide en 4 subclases: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4; y la IgA en 2 subclases: IgA1 e IgA2.

La unidad básica de cada inmunoglobulina está formada por 2 cadenas pesadas, y 2 ligeras. Las cadenas ligeras son comunes a todas las clases y subclases, de tal forma que en una misma molécula las 2 cadenas ligeras son del mismo tipo. Las clases y subclases varían únicamente en las cadenas pesadas. La estructura básica está compuesta por 3 fragmentos. 2 de estos capaces de unirse al antígeno y denominados fragmentos Fab (del inglés "antigen binding"). El tercer fragmento no se une al antígeno, es el denominado fragmento Fc, (fragmento cristizable) y se une a receptores (FcR) sobre distintos tipos de células. Además podemos distinguir en cada cadena (pesada o ligera) 2 partes, una variable y otra constante. Las regiones variables se caracterizan por las diferencias en las secuencias de aminoácidos que existen de una molécula a otra, aunque sean de la misma clase, subclase o tipo. Las regiones constantes tienen, por el contrario, las secuencias parecidas en moléculas de la misma clase, subclase o tipo. Las regiones variables de cada molécula de Ig constituyen la base de la especificidad de anticuerpos. Dentro de estas regiones existen zonas cuya variabilidad en los aminoácidos es aún mayor. Se las denomina "regiones hipervariables" y constituyen las zonas que contactan con el antígeno, también llamadas "zonas combinantes".

Tienen como función principal, independientemente de las clases y subclases, unirse específicamente al antígeno por el fragmento Fab. Sin embargo difieren unas de otras, en las propiedades biológicas que están basadas, en la capacidad del fragmento Fc de unirse a unas células u otras. Así por ejemplo, IgM y algunas subclases de IgG (IgG1, IgG2 y en parte IgG3), pueden unirse a proteínas del sistema del complemento. Solo las IgG pueden unirse a las plaquetas y solo algunas subclases de IgG pueden atravesar la placenta. Las IgE puede unirse a los mastocitos y basófilos, sensibilizándolos para una subsecuente interacción con los antígenos. En general hay receptores para Fc en : Linfocitos, mastocitos, basófilos, neutrófilos, eosinófilos y plaquetas.

2) Sistema del complemento.

El sistema del complemento consiste en un grupo de proteínas que forman el 10% del total de las proteínas séricas. Las funciones de estas proteínas incluyen: - Control de las reacciones inflamatorias.

- Eliminación de antígenos.
- Activación celular.
- Preparación de microorganismos y de partículas extrañas para la fagocitosis.
- Intervienen en el desarrollo de la respuesta inmune y en reacciones inmunopatológicas.

Aproximadamente hay 30 moléculas diferentes que forman el sistema del complemento, y la activación del mismo ocurre en forma de cascada mediante dos posibles vías. La clásica, que es desencadenada mediante complejos antígeno-anticuerpo, y la alternativa desencadenada por una gran variedad de moléculas en distintas superficies. Tanto la alternativa, como la clásica, activan el factor C3, que es el factor central de la cascada del complemento. Después se activa la vía lítica (desde C3 a C9) formando un complejo de ataque a membrana (MAC), que se introduce en el interior de las células, lisándolas. (Fig. 12).

En el proceso de activación del complemento, se generan subfragmentos por división de C3, C4 y C5. Estos subfragmentos son denominados C3a, C4a y C5a y pueden participar en reacciones de defensa en el fluido tisular y se definen como anafilatoxinas ya que pueden inducir, contracción de la musculatura lisa, aumentar la permeabilidad de los vasos sanguíneos y causar la liberación de histamina de los mastocitos y basófilos. C5a, además, es quimiotáctico para neutrófilos y monocitos, aumentan la adherencia celular y causan la

degranulación de estas células. C5a, también aumenta el metabolismo del ácido araquidónico, estimula la producción de metabolitos tóxicos, y puede aumentar la producción de IL-1 por monocitos.

Las células del sistema linfoide, así como otras células accesorias incluyendo mastocitos y eosinófilos, tienen receptores para diversos componentes del complemento, dando lugar a diferentes funciones dependiendo del receptor y de la célula. Así la función opsonizadora del complemento es mediada principalmente por C3 y sus productos, y algo también por C4. Y la intervención en los procesos inflamatorios es realizada por C5 y sus productos. Muchas bacterias se protegen de la opsonización del complemento, por la formación de cápsulas que impiden la unión de componentes del complemento.

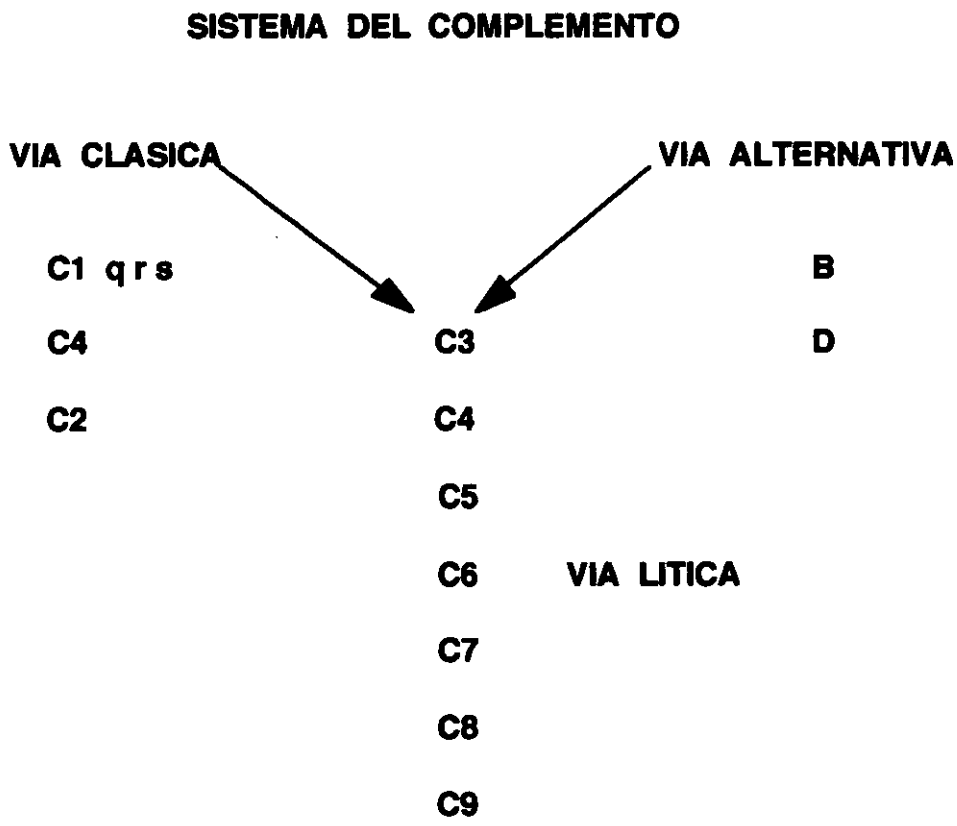


Fig. 12. Sistema del complemento.

3) Citoquinas.

Cuando se comenzaron a estudiar las interacciones celulares en la respuesta inmune, se observó, que tanto la activación de los macrófagos por los linfocitos, como la capacidad de los linfocitos T de cooperar con los B en la producción de inmunoglobulinas, eran actividades que se ejercían a través de mediadores solubles producidos por las células. Así, la acción de esas células podía ser realizada por sobrenadantes de sus cultivos. Estos factores solubles producidos por linfocitos y que actuaban sobre diversas células fueron llamados linfoquinas o linfocinas. De la misma forma, a los factores solubles producidos por los monocitos/macrófagos se les llamó monoquinas o monocinas, aunque, indebidamente, en ocasiones se les ha englobado a todos bajo el nombre de linfocinas.

Estos factores fueron identificados por su actividad en diferentes ensayos biológicos, sin lograrse su aislamiento y caracterización. Esto hacía que no se pudiera precisar si en los sobrenadantes de cultivo utilizados existían una o varias linfocinas simultáneamente, ni tampoco si acciones diferentes puestas de manifiesto en distintos ensayos estaban mediadas por factores igualmente diferentes, o por un mismo factor que era producido en ambas ocasiones. Por tanto, comenzaron a ser denominados según su función y clasificados según la célula sobre la que actúan, pero sin saber si en cada caso se trataba realmente de una molécula diferente. Así tenemos:

Factores que actúan sobre macrófagos.

- Quimiotáctico para macrófagos (MCF).
- Inhibidor de la migración (MIF).
- Activador de macrófagos (MAF).

Factores que actúan sobre polimorfonucleares.

- Quimiotáctico de leucocitos (LCF).
- Inhibidor de la migración de leucocitos (LIF).

Factores que actúan sobre linfocitos.

- De crecimiento de linfocitos T (TCGF o IL-2).
- De crecimiento de linfocitos B (BCGF).
- De diferenciación de linfocitos B (BCDF).
- de transferencia.

Otros factores.

- Interferón gamma.
- Linfotoxinas.
- Factor que aumenta la permeabilidad vascular.
- Factor activador de osteoclastos.
- Factor activador de colonias.

Los progresos realizados en los últimos años en biología molecular, han permitido una mejor caracterización de estos factores, y en muchas ocasiones el clonaje y secuenciación de los genes que los producen, consiguiéndose así determinar su estructura y obtenerlos en forma purificada.

Así se ha podido observar que la activación de los macrófagos por los linfocitos depende fundamentalmente del interferón-gamma, no existiendo en realidad el MAF como factor específico para esa actividad. Otro buen ejemplo de la rápida evolución y el constante cambio en nuestros conocimientos sobre las citoquinas, lo constituye el estudio de la actividad presente en los sobrenadantes de los cultivos de linfocitos T, necesaria para la diferenciación de los linfocitos B en células productoras de anticuerpos, y que fue denominada en un principio TRF (del inglés "*T cell replacing factor*"). A partir de 1980 se vio que estaba compuesta por más de un factor, ya que se podían separar factor(es) que inducían la proliferación de los linfocitos B, pero no la producción de inmunoglobulinas, llamado(s) "BCGF" (del inglés *B cell growth factor*) y otro(s) responsable(s) de la diferenciación final a células productoras de grandes cantidades de inmunoglobulinas, pero sin capacidad de estimular el crecimiento celular llamado(s) "BCDF" (del inglés *B cell differentiation factor*). Hoy se conocen al menos nueve factores que regulan y/o intervienen en la respuesta de los linfocitos B. La mayor parte de ellos están aún mal caracterizados.

Al lograrse en estos últimos años determinar la estructura de algunos de estos factores y obtenerlos purificados, ha sido necesaria una nueva nomenclatura. Ya no es preciso denominarlos por la función que ejercen, sin saber si esos nombres corresponden a uno o varios factores, sino que ya pueden tener un nombre propio que corresponda a una estructura única, bien conocida y caracterizada. Se eligió la denominación de *interleucina* (seguida de un número) para estos factores, ya que de forma general son producidos por leucocitos y actúan sobre otros leucocitos. El primero en ser caracterizado y que fue denominado por tanto *interleucina-1* o *IL-1* fue un factor producido por los macrófagos y capaz de activar a los linfocitos T durante la interacción de estos con el antígeno, por lo que previamente era

llamado LAF (del inglés "*lymphocyte activating factor*"). Esta interleucina es por tanto una monicina y no una linfocina.

A un factor producido por linfocitos T y que es indispensable para el crecimiento prolongado de este tipo de linfocitos, se le denominó *interleucina-2 (IL-2)* . Este factor tiene también otras funciones, entre las que destaca la capacidad de activar la célula NK.

La *interleucina-3* es un factor que había recibido previamente múltiples denominaciones según sus funciones (factor estimulante de multiclonias, factor de crecimiento de mastocitos, factor estimulante de la producción de histamina, etc.) y que hoy se sabe que todas ellas son realizadas por un mismo factor, producto de un mismo gen. Esta linfocina, producida por los linfocitos T estimula células hematopoyéticas de todas las estirpes por lo que también ha sido llamada hemopoyetina panespecífica.

Muy recientemente se han ido dando nombres a otros tres factores: *interleucina-4* a un factor producido por un gen clonado a partir de linfocitos T y que tiene la actividad de factores anteriormente conocidos bajo el nombre de BSF-1 (del inglés *B cell stimulatory factor 1*), BCGF1 y BCDFgamma y que por lo tanto tiene actividad fundamentalmente como activador de la proliferación y diferenciación de los linfocitos B, *interleucina-5* a un factor producido también por los linfocitos T y que estimula la producción de eosinófilos, e *interleucina-6* a un factor que se ha visto corresponde a los anteriormente denominados HGF (*Hibridoma growth factor*), BSF-2 (*B cell stimulatory factor-2*) y INF-Beta2 (*interferón Beta-2*) y que al ser clonados sus genes sus secuencias son idénticas. Parece que las células productoras de IL-6 son monocitos.

La caracterización de los factores solubles que median entre las células del sistema inmune complica el estudio de las interacciones entre ellas, ya que la mayoría de las funciones son realizadas por más de un factor (a la actividad en un principio denominada TRF se piensa hoy que pueden contribuir unos 9 factores solubles distintos), y además, cada factor es capaz de realizar diversas funciones, actuando sobre células diferentes, e incluso ser producido por células de estirpe muy diversa. Un caso extremo que puede servir para ilustrar esto es la IL-1: aunque su importancia en la respuesta inmune derive fundamentalmente de su producción por el macrófago y su acción sobre el linfocito T, tiene otras funciones en el organismo y puede ser producido por multitud de estirpes celulares diferentes. (Fig. 13 y 14).

ACCIONES ATRIBUIDAS A LA IL-1

	CELULA DIANA	ACCION
Crecimiento y diferenciación	Linfocito T Linfocito B Fibroblastos Células NK	Liberación de linfocitos cofactor en proliferación / diferenciación. Proliferación. Aumento de citotoxicidad.
Inflamación	Neutrófilos Macrófagos Fibroblastos Sinovial Endotelio	Quimiotaxis, degranulación. Quimiotaxis, liberación de PG. Crecimiento, liberación PG. Liberación collagenasa y PG. Liberación PG.
Catabolismo hístico	Hepatocitos Músculo Osteoclastos Condrocitos	Secreción de reactantes de fase aguda. Proteólisis. Reabsorción hueso. Destrucción de cartílago.
Sistema nervioso central		Fiebre Sueño.

Fig. 13. Acciones atribuidas a la IL-1.

CELULAS CAPACES DE PRODUCIR IL-1

Monocitos / macrófagos.
Células dendríticas.
Células de Langerhans.
Linfocitos grandes granulares (LGL).
(células NK)
Linfocitos B.
Linfocitos T.
Células endoteliales.
Células mesangiales.
Astroцитos.
Células microglía.
Neutrófilos.
Fibroblastos.
Células epitellales.

Fig. 14. Celulas capaces de producir IL-1.

Dentro de la lista de interleukinas hay que mencionar también a los interferones, que son una familia heterogénea de citoquinas, que fueron descritas inicialmente por su actividad antivírica. Pueden dividirse en dos tipos: Interferones tipo 1, INF-alfa e INF-beta, producidos tras una infección viral de leucocitos y fibroblastos; e interferon tipo 2, o INF-gamma, producidos por linfocitos previa estimulación por antígenos o mitógenos. Los interferones tienen gran variedad de efectos sobre las células inmunes y también inducen la síntesis de proteínas antivirales.

Entre los factores solubles importantes en la respuesta inmune, además de los ya mencionados y que permiten la interacción entre células que participan en la respuesta, hay que mencionar también los encargados de la destrucción o detención del crecimiento de otras células (moléculas citolíticas o citostáticas). Una de las primeras citoquinas estudiadas, fue la linfotoxina causante de necrosis hemorrágica tumoral. Se encontró que esta actividad residía en dos proteínas, denominadas TNF-alfa y TNF-beta. Ambas tienen múltiples funciones, incluyendo la activación de la reabsorción de hueso y cartílago. Función que comparten con la IL-1, actuando sinérgicamente.

Está claro que las citoquinas juegan un papel importante en el sistema inmune, en la hematopoyesis, y en la inmunorregulación. También juegan un papel importante en la patofisiología, tanto en la producción de destrucción tisular como en la cicatrización. Su producción excesiva en procesos inflamatorios crónicos puede tener consecuencias patológicas como ocurre en la enfermedad periodontal.

4) Factores de crecimiento.

Hay una gran variedad de factores de crecimiento que pueden influir en la respuesta inmune, incluyendo TGF-beta (del inglés "*thymocyte growth factor*"), EGF (del inglés "*epidermal growth factor*") PDGF (del inglés "*platelet derived growth factor*"). TGF-beta es un potente modulador de la respuesta inmune; por ejemplo, puede inhibir la proliferación de células T y suprimir la secreción de la mayoría de los isotipos de inmunoglobulinas.

Los factores estimuladores de colonias, estimulan a los stem cell medulares para producir células madre las cuales también intervienen en el sistema inmune. Han sido descritos tres: GM-CSF (del inglés "*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*"), el cual actúa sobre el crecimiento de granulocitos (neutrófilos y eosinófilos) y células progenitoras de monocitos. GCSF (del inglés "*granulocyte colony-stimulating factor*"), el cual actúa sobre el crecimiento de las células progenitoras de granulocitos. MCSF (del inglés "*monocyte/macrophage colony-stimulating factor*"), el cual actúa sobre el crecimiento de las células progenitoras de monocitos.

5) Mediadores.

Pueden dividirse en tres categorías:

-Mediadores proteicos. Incluyen enzimas y proteoglicanos biológicamente activos. Dentro de estos tenemos a las citoquinas. y los proteoglicanos. Estos últimos constituidos por 90-95% de carbohidratos y el resto es un núcleo proteico. Por ejemplo, la heparina, la cual es liberada por los mastocitos e interviene impidiendo la formación del coágulo.

-Péptidos. Incluyen: kininas, factor quimiotáctico de eosinófilos (ECF) y las anafilatoxinas (C3a, C4a y C5a). Las kininas derivan de los kininógenos, los cuales son proteínas más largas presentes en el plasma. La bradikina es la kinina más conocida, y produce contracción muscular. Las kininas también incrementan la permeabilidad vascular y producen vasodilatación. Inducen dolor y pueden iniciar el metabolismo del ácido araquidónico.

-Metabolitos del ácido araquidónico y aminos biológicamente activas. Cuando una célula es dañada, se libera ácido araquidónico de la membrana plasmática, y esto ocurre tanto en situaciones leves como puede ser un pellizco, como en situaciones más severas como una quemadura o un traumatismo. Estímulos específicos como, bradikina, adrenalina o complejos antígeno-anticuerpo, también liberan ácido araquidónico. Este ácido araquidónico puede ser metabolizado por la vía de la ciclooxigenasa (prostaglandín endoperoxid sintetasa) o por la vía de la lipooxigenasa. La vía de la ciclooxigenasa va a dar lugar a la producción de prostaglandinas, (la más importante PGE-2) tromboxanos y prostaciclina; mientras que la vía de la lipooxigenasa produce leucotrienos (LTA₄, LTB₄, LTC₄, LTD₄, LTE₄ y LTF₄) y lipoxinas. La vía de la ciclooxigenasa se inhibe mediante antiinflamatorios no esteroideos, como aspirina e indometacina, y el resultado es la inhibición de la producción de prostaglandinas y la reducción de muchos procesos inflamatorios provocados por estas. Las prostaglandinas tienen una amplia variedad de efectos biológicos sobre el sistema reproductor femenino, secreción gástrica, control de la presión sanguínea y procesos inflamatorios. Influyen en la vasodilatación, aumentan la permeabilidad vascular y causan dolor. Los leucotrienos C₄, D₄ y E₄ producen la contracción de la musculatura lisa. LTB₄ es un potente factor quimiotáctico de neutrófilos y además juega un importante papel en la inflamación.

El factor activador de plaquetas (PAF) es producido por leucocitos. Se une a células, como los mastocitos, causando la liberación de histamina. Cuando se une a las plaquetas provoca agregación, activación y degranulación liberándose sustancias biológicamente activas. Los PAFs son quimiotácticos para neutrófilos y causan la agregación de los mismos y su degranulación.

Dentro del grupo de aminos biológicamente activas, las dos más importantes son la histamina y la serotonina. Ambas actúan sobre el diámetro y la permeabilidad de los vasos sanguíneos. La histamina actúa sobre dos tipos de receptores H₁ y H₂. En los H₁ produce contracción de la musculatura lisa en bronquios y en tracto gastrointestinal. Mientras que en los H₂ fundamentalmente interviene en la secreción de ácido gástrico. Estos dos receptores se encuentran también sobre células del sistema inmune. Por ejemplo pueden suprimir la citotoxicidad de los linfocitos T y suprimir la producción de linfoquinas, cuando se unen a células del sistema inmune. Cuando se une sobre los receptores en los granulocitos, estimula la quimiotaxis y libera enzimas lisosómicos. La serotonina se encuentra fundamentalmente en las células del sistema nervioso central, donde funcionan como neurotransmisores. Puede actuar también sobre la musculatura lisa y vasos.

1.5.2. Defensa del huésped en la enfermedad periodontal. (32,103)

Todas las formas de periodontitis en humanos y otros mamíferos son infecciones. Las bacterias involucradas son predominantemente, aunque no exclusivamente, móviles, anaerobias y gram negativas. Estas colonizan la superficie del diente cerca del margen gingival, entran en el surco para colonizar el área subgingival, y en algunos casos se extienden apicalmente a la interfase entre el diente y el tejido gingival. Las bacterias y las sustancias que ellas producen, provocan una reacción inflamatoria en el tejido gingival adyacente. Una gran cantidad de neutrófilos (PMNs), son atraídos a la zona de interacción entre las bacterias y la superficie tisular. Estas células son todavía viables y pueden realizar funciones de fagocitosis y destrucción.

Tanto los mecanismos locales como los sistémicos participan en la eliminación de la infección periodontal y detención de la progresión de la enfermedad.

Los **mecanismos de defensa a nivel local** más importantes son:

- 1) Barrera epitelial.
- 2) Saliva: Acción de lavado, aglutininas y anticuerpos.
- 3) Fluido crevicular: Acción de lavado, opsoninas, anticuerpos, complemento y otros componentes del plasma.
- 4) Producción local de anticuerpos.
- 5) Turnover tisular elevado.
- 6) Presencia de flora normal.
- 7) Migración de PMNs y otros leucocitos.

La barrera epitelial previene la invasión de las bacterias y bajo condiciones normales protege contra la mayoría de las sustancias bacterianas. La saliva contiene anticuerpos específicos, IgA e IgG, que reaccionan con antígenos de las bacterias orales, así como aglutininas inespecíficas que regulan la composición de la flora oral. El turnover del epitelio y del conectivo del tejido periodontal es extraordinariamente elevado en relación a otros tejidos, se produce un reemplazamiento total en solo unas pocas semanas. Como consecuencia se puede tolerar en estos tejidos una mayor carga microbiana que en otras zonas del organismo. La presencia de una flora oral normal tiende a evitar la colonización y sobrecrecimiento de bacterias patógenas. Aunque todos estos factores mencionados juegan un importante papel en la defensa a nivel local, ninguno es tan importante como la barrera de PMNs, como lo

demuestra el hecho de que mínimas alteraciones en los neutrófilos resultan en periodontitis de comienzo temprano y de rápida progresión.

La infección periodontal, activa los mismos **sistemas de defensa sistémicos** que otra infección en otra zona del organismo. Estos incluyen, cambios en el lecho vascular que resultan en la formación de un infiltrado inflamatorio y activación del sistema inmune, fagocitos, cascada del complemento y el sistema generador de quininas. Las células y moléculas presentes en el suero, llegan a la zona afectada atravesando los vasos sanguíneos inflamados y ejerciendo sus efectos localmente. Mientras su activación proporciona defensa contra los microorganismos, los mismos sistemas participan en la destrucción de los tejidos del huésped. Alteraciones en cualquiera de estos sistemas podría dar lugar a una mayor susceptibilidad de padecer periodontitis.

A medida que la infección periodontal se desarrolla, se forma un denso infiltrado inflamatorio (neutrófilos, macrófagos, linfocitos y células plasmáticas) y el conectivo de la encía y del ligamento periodontal, el hueso alveolar y algunas veces la superficie radicular son destruidos. Los mecanismos por los cuales los tejidos periodontales son destruidos son medianamente conocidos. Los neutrófilos y macrófagos dentro del tejido inflamado encuentran sustancias bacterianas, y son estimulados para segregar enzimas hidrolíticas, como colagenasa y otras muchas moléculas, incluyendo metabolitos del ácido araquidónico e interleuquinas. La acumulación de linfocitos, tanto T como B, se hace activa produciendo, sintetizando y segregando linfoquinas y transformándose a células plasmáticas productoras de inmunoglobulinas. Las sustancias bacterianas llegan a la circulación y estimulan la respuesta inmune en los órganos linfoides y tejidos donde la producción de anticuerpos es estimulada. Como consecuencia la mayoría de los pacientes con periodontitis de moderada a severa, manifiestan anticuerpos séricos que reaccionan con antígenos de las bacterias periodontales.

1.5.2.1. Factores de riesgo relacionados con los mecanismos de defensa del huésped.

La periodontitis crónica de moderada a severa afecta solo a una pequeña parte de la población. Incluso en individuos afectados, existen bolsas periodontales activas e inactivas y la progresión de la enfermedad es episódica e infrecuente. Factores de riesgo que puedan explicar la susceptibilidad de ciertos pacientes a la hora de padecer estas enfermedades,

todavía permanecen oscuros. Por otro lado existen diferentes tipos de periodontitis, y los factores de riesgo varían de una a otra. Cualquier alteración en los mecanismos de defensa, puede alterar la susceptibilidad y la progresión de la enfermedad.

1) Anormalidades en la función leucocito-fagocito.

Es el factor inmunológico más estudiado en la periodontitis, ya que los PMNs juegan un importante papel en la defensa del surco gingival. Cianciola y col., y Clark y col. (104,105), demuestran en sus trabajos que los PMNs de sangre periférica de pacientes con periodontitis juvenil, manifiestan una marcada disminución en la quimiotaxis; la migración aleatoria no parece estar afectada (106) y la quimiotaxis de los monocitos parece ser normal (105). Nadie ha detectado anomalías en la quimiotaxis de PMNs en pacientes con periodontitis crónica del adulto. Sin embargo se han podido observar defectos en la quimiotaxis de todos los pacientes con periodontitis prepuberal hasta ahora estudiados (107). En las periodontitis rápidamente progresiva, también se ha detectado la misma alteración, pero en una proporción de individuos afectados menor que para la periodontitis juvenil. (106,108,109).

Se han estudiado otras funciones en los PMNs, como la motilidad celular, liberación de enzimas lisosomales, consumo de oxígeno y generación de superóxido, pero generalmente con resultados negativos (113). Algunos autores han encontrado alteraciones en la fagocitosis (110-113).

Ranney ha demostrado que la prevalencia de este tipo de defectos en los PMNs, es significativamente mayor en la raza caucasiana que en la raza negra.

Hay que tener en cuenta también, que a veces donde la quimiotaxis de los PMNs parece normal, podría estar deprimida por factores séricos inhibidores, que se sabe que existen en algunos casos (106,109,111).

En la mayoría de los casos esta alteración en la quimiotaxis se debe a un defecto intrínseco de la célula (114), que no es reversible con el tratamiento (109,115). Van Dyke y col. demuestran la existencia de una disminución en el número de receptores quimioatrayentes aunque perfectamente funcionales. También encontraron (116) una reducción de aproximadamente el 40% en una proteína con un tamaño molecular de aproximadamente 110 kDa, denominada GP110. Esta glicoproteína, no es un receptor quimioatrayente, pero está relacionado de una manera desconocida con la quimiotaxis. La

alteración en GP110 puede indicar que las células de estos pacientes sean inmaduras y no estén completamente diferenciadas desde el momento que esta GP110 aparece tarde en la diferenciación celular. Esta idea es soportada por la observación de que el receptor CR2, para el factor C3d del complemento, se encuentra presente solo en células inmaduras, y se localiza en las células de estos pacientes (116).

La naturaleza molecular de la quimiotaxis deprimida en las periodontitis rápidamente progresivas no ha sido identificada. En las células de estos pacientes la GP110 parece ser anormal y es probable que los receptores quimioatrayentes estén disminuidos. Los PMNs de estos pacientes han sido estudiados, con relación al metabolismo del ácido araquidónico, y mientras la captación de ácido araquidónico por parte de las células del paciente era normal, la producción de leucotrieno B₄ estaba significativamente reducida en relación con células normales. Por el contrario los PMNs de pacientes con periodontitis juvenil, no diferían en la captación de ácido araquidónico ni en la producción de leucotrieno B₄, en relación con las células normales. Por lo tanto esta aparente anomalía en la producción de LB₄ parece única de células de pacientes con periodontitis rápidamente progresiva, pudiendo servir como marcador para distinguir entre estos pacientes y los que padezcan periodontitis juvenil.

La naturaleza molecular del defecto en la quimiotaxis de los pacientes con periodontitis prepuberal generalizada ha sido identificada, así como el patrón de transmisión (107). El receptor para la adherencia leucocitaria, expresado normalmente sobre la superficie de los PMNs y monitos es anormal en los leucocitos de estos pacientes. Como consecuencia, aunque el número de leucocitos sea alto, las células no pueden adherirse a la superficie del endotelio vascular, por ello no pueden emigrar desde los vasos hasta la zona de lucha. Consecuentemente los niños están privados de su principal defensa contra el ataque bacteriano. Los estudios en familias demuestran que este defecto se transmite genéticamente por carácter autosómico recesivo. (Fig. 15).

NEUTROFILO

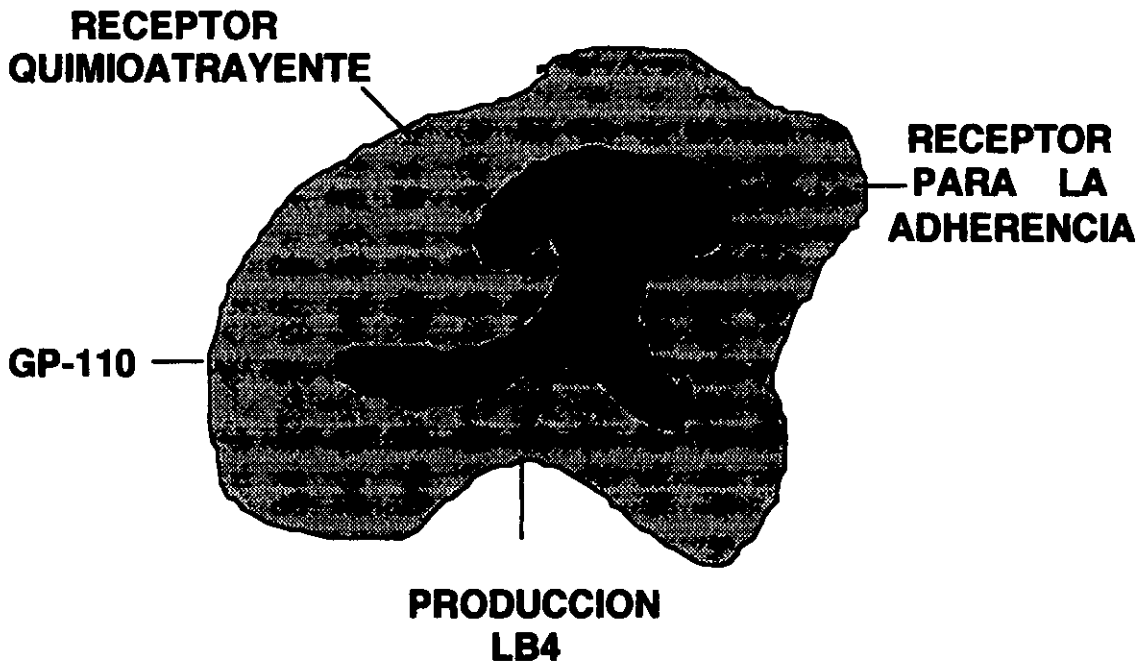


Fig. 15. Receptores del neutrófilo alterados en las periodontitis.

2) Defectos en la respuesta inmune celular.

Basado en el conocido papel del sistema inmune en la prevención y control de las infecciones en general, se podría esperar la presencia de factores de riesgo para la periodontitis en una respuesta inmune alterada. Estudios sobre pacientes inmunodeprimidos, sin embargo, demuestran que esto no es así, indicando que defectos en la respuesta inmune pueden ser menos importantes a la hora de hacer a un individuo susceptible de padecer enfermedad periodontal, que los defectos en las células fagocíticas (117-119).

3) Reacción autóloga mixta de los linfocitos (AMLR).

Cuando incubamos linfocitos de sangre periférica in vitro durante 7 o más días, en ausencia de sustancias mitógenas, se produce proliferación celular (120). Esta respuesta es considerada reflejo del mecanismo de reconocimiento que ocurre en la inmunorregulación

normal, y el mantenimiento de la homeostasis inmunológica normal. La AMLR es anormal en algunos pacientes con lupus eritematoso, síndrome de Sjögren, enfermedad de Hodgkin y en algunos pacientes con periodontitis rápidamente progresiva, juvenil y algunos adultos con periodontitis avanzada (108,115,121). Si la supresión en AMLR está relacionada con la susceptibilidad a padecer periodontitis o es consecuencia de la infección, no está claro. Esta alteración no ocurre en todos los pacientes. La observación de que los valores en la AMLR es normal después de varios meses tras tratamiento, indica que la AMLR puede no estar relacionada con la susceptibilidad, sino que puede ser una consecuencia de la infección (115,122).

4) Hiperrespuesta de células B. (123,124)

Cuando los leucocitos de sangre periférica de individuos normales son cultivados con antígenos desconocidos, al que no han sido expuestos previamente, una pequeña porción de linfocitos reconocen al antígeno y responden sufriendo blastogénesis y producción de pequeñas cantidades de linfoquinas y de anticuerpos específicos contra los antígenos activados. Cuando ciertas sustancias bacterianas son añadidas a tales cultivos, hasta el 30% del total de los linfocitos B responden, sufriendo blastogénesis y produciendo grandes cantidades de linfoquinas y anticuerpos. Estos mitógenos están referidos como activadores policlonales de células B (PBAs), y la activación es conocida como respuesta policlonal de células B. Se ha demostrado que la respuesta policlonal de células B está aumentada en células de pacientes con periodontitis rápidamente progresiva, en relación con células normales. La base de la hiperrespuesta no ha sido establecida. Los autores han especulado que la hiperrespuesta puede ser un rasgo transmitido genéticamente y que puede predisponer a individuos a periodontitis de comienzo temprano. Aproximadamente el 70% de los pacientes manifiestan hiperrespuesta, en relación a sujetos control, pero por razones que no son claras el 30% restante no. Esto puede representar heterogenicidad en el grupo de periodontitis rápidamente progresiva o puede reflejar diagnósticos imprecisos. Permanece desconocido si esta hiperrespuesta revierte con el tratamiento o no.

5) Respuesta humoral específica.

Numerosos estudios de niveles de anticuerpos séricos en pacientes con varios tipos de periodontitis y sujetos control normales, han demostrado que casi todos los individuos con periodontitis de comienzo temprano y una pequeña proporción de individuos con periodontitis del adulto, manifiestan anticuerpos séricos reactivos contra antígenos de bacterias periodontales. Hay sin embargo bastante escasez de datos respecto a la efectividad

biológica de tales anticuerpos, y si son protectores, destructores, o nulos en el progreso de la enfermedad, permanece desconocido.

La capacidad de producir anticuerpos biológicamente funcionales, en grandes cantidades, puede estar relacionado con la resistencia a la enfermedad periodontal, y con detener o enlentecer la progresión de la enfermedad. Gunsolley y col. (125) buscaron correlaciones entre niveles de anticuerpos séricos y medidas de severidad de enfermedad en pacientes con periodontitis de comienzo temprano. Observaron una relación inversa significativa entre reactividad de anticuerpos frente a A.A. y P.G. y el número de dientes con pérdida de inserción. Especularon que el fallo en una respuesta importante de anticuerpos frente a estas bacterias, condujo a una enfermedad periodontal de comienzo temprano más avanzada y generalizada. Estas observaciones soportan la idea de que una capacidad reducida para producir cantidades suficientes de anticuerpos biológicamente funcionales puede predisponer al comienzo y progresión de la enfermedad.

6) Producción de citoquinas y metabolismo del ácido araquidónico.

Una última vía de la respuesta inmune, que puede estar involucrada en la susceptibilidad a padecer enfermedad periodontal, se refiere a la capacidad de las células fagocíticas de sintetizar y segregar citoquinas (IL-1), y metabolizar el ácido araquidónico. Tales mediadores participan en la destrucción periodontal. La IL-1 está presente en la encía inflamada y en altas concentraciones en el fluido crevicular de zonas activas previas al tratamiento. Después del tratamiento los valores de IL-1 descienden en la mayoría de los sitios por debajo de los niveles detectables. No se sabe si los individuos que son resistentes a padecer enfermedad periodontal, difieren de los que son susceptibles con respecto a la producción de citoquinas y metabolitos del ácido araquidónico.

1.5.3. Respuesta del huésped en la enfermedad periodonta.

1.5.3.1. Respuesta de la inmunidad celular en pacientes periodontales.

Los tejidos gingivales normales contienen linfocitos, pero casi no se ven células plasmáticas. La mayoría de los linfocitos son células T. Desde hace tiempo se reconoce que la encía adyacente a las lesiones periodontales, está intensamente invadida por un infiltrado mononuclear. En caso de gingivitis leve, hay un aumento de 2 a 3 veces el número de

linfocitos en los tejidos y aparecen pocas células plasmáticas. La mayoría son linfocitos T y el 6% son linfocitos B. En la gingivitis severa, sigue el predominio de linfocitos sobre células plasmáticas, pero existe igual número de células B (IgG1, IgG2) y T. La composición celular de los tejidos con periodontitis, es bastante diferente de la vista en gingivitis. En periodontitis el número de células plasmáticas y linfocitos es mucho mayor, y las células plasmáticas predominan sobre los linfocitos. 78% de los linfocitos son células B (IgG 67%, IgM 24% e IgA 8%) (32). Se propuso, por tanto, que la lesión inicial estaba compuesta fundamentalmente por linfocitos T, y más tarde a medida que avanza el proceso inflamatorio, por linfocitos B y luego células plasmáticas (126,127). Más recientemente, Stouffi y col. (128) y Johannessen y col. (129) cuestionaron esta afirmación. Ellos encontraron que los linfocitos T y B pueden predominar en las lesiones, pero que había una tremenda variación en el número de células plasmáticas. Los estudios realizados en la década de los 80 demuestran que la tasa T4/T8 está disminuida en las lesiones periodontales, en relación a la observada en salud o en sangre periférica (130,131). En los pacientes con SIDA, que tienen una periodontitis severa, hay también disminución de los T4 y aumento de los T8, tanto en los tejidos gingivales como en sangre periférica. Taubman y col. encontraron que muchas de las células T4 en lesiones periodontales son de hecho células de memoria. También encontraron que los macrófagos gingivales promueven, y que los T8 suprimen, la producción de inmunoglobulinas y anticuerpos, regulando la respuesta inmune gingival a nivel local. Estas alteraciones en las poblaciones celulares de la encía, ofrecen posibilidades para el desarrollo de procedimientos diagnósticos basados en técnicas inmunohistológicas.

La respuesta de la inmunidad celular en pacientes periodontales se ha estudiado fundamentalmente en sangre periférica, sobre todo en las dos últimas décadas. Los estudios de Ivanyi y Lehner mostraron una respuesta blastogénica aumentada en los linfocitos de sangre periférica, en pacientes con enfermedad periodontal. Por otro lado también se observó (Suzuki y Seymour) que la reacción autóloga mixta de los linfocitos de sangre periférica en estos pacientes estaba disminuida, la cual desaparecía después del tratamiento, por lo que no se sabía si esta disminución era consecuencia o causa de la propia enfermedad (120,121).

Estudios en pacientes con inmunodeficiencias en general, natural (individuos con deficiencia selectiva de IgA, agammaglobulinemia, defectos celulares o combinaciones severas) o inducida por farmacoterapia (inmunosupresores) demostraron que la mayoría de estos tenían una afectación periodontal similar a los pacientes control (117-119). Sin embargo pacientes con alteraciones tales como agranulocitosis, enfermedades sistémicas que cursan con disminución de la función en los neutrófilos (diabetes, síndrome de Down, etc.), todos

han demostrado tener una enfermedad periodontal severa. Como conclusión podemos afirmar que los datos demuestran que la inmunosupresión o defectos primarios naturales, no tienen efecto en la prevalencia y severidad de la periodontitis, y puede que suprima en pequeño grado, el desarrollo de inflamación gingival. Por el contrario, deficiencias del en las células fagocíticas (neutrófilo y/o monocitos) predispone a una persona al desarrollo de periodontitis la cual es de comienzo temprano y severa. Por ello se puede considerar de gran importancia diagnóstica y pronóstico la valoración de la función neutrófila en relación con la enfermedad periodontal.

1.5.3.2. Papel de las inmunoglobulinas y anticuerpos en la enfermedad periodontal.

Los estudios realizados en las dos últimas décadas, han demostrado la existencia, en pacientes con enfermedad periodontal destructiva, de anticuerpos frente a periodontopatógenos (132,133). Por ejemplo, la mayoría de los pacientes con periodontitis del adulto tienen anticuerpos frente a la *Porphyromona Gingivalis* , y los pacientes con periodontitis juvenil localizada, presentan anticuerpos séricos y en el fluido crevicular frente al *Actinobacillus actinomycetemcomitans* . Estudios sobre los niveles totales de inmunoglobulinas en pacientes con varias formas de periodontitis, demuestran que los individuos jóvenes con PJI presentan a menudo aumento en los niveles de IgG sérica (134). De Nardin y col. demuestran que la mayoría de los adultos con periodontitis tienen niveles normales de inmunoglobulinas séricas totales; sin embargo, los pacientes con edades más avanzadas presentan una elevación en los niveles de IgG séricos (135). Los trabajos realizados por Powell y col. indican que los niveles de IgG4 en fluido crevicular están por encima de los niveles de IgG4 séricos, indicando inducción local de la misma (136).

Los anticuerpos con funciones tales como opsonización de *A. actinomycetemcomitans* y *P. Gingivalis* , actividad antiproteasa contra la P.G. o antileucotoxina contra el A.A., son probablemente factores clave en la limitación de la infección y destrucción tisular causada por estos organismos.

Los factores del huésped que pueden influir en la producción de estos anticuerpos específicos, tales como genes inmunorreguladores, que en algunos individuos pueden conducir a un estado de no respuesta, pueden dar lugar a un aumento de la susceptibilidad o aumento de la severidad en la enfermedad periodontal. Por lo tanto, la detección de anticuerpos protectores específicos en suero o en fluido crevicular, pueden actuar como marcadores de susceptibilidad a padecer enfermedades periodontales.

Los anticuerpos también pueden influir en la enfermedad periodontal, actuando sobre la colonización bacteriana en la superficie de la mucosa. Estudios actuales demuestran que la P.G. tiene una fimbria que interviene en la adherencia sobre la superficie de la mucosa. Anticuerpos que actúan sobre esta fimbria impiden in vitro, la adhesión de esta bacteria a las superficies epiteliales de la cavidad oral. Por lo tanto anticuerpos frente a periodontopatógenos en la puerta de entrada, pueden prevenir su colonización e interrumpir el desarrollo de la enfermedad periodontal en un estadio inicial.

1.5.3.3. Importancia de las citoquinas y mediadores de la inflamación en la enfermedad periodontal.

La IL-1 es la citoquina mejor estudiada en la enfermedad periodontal, y fue descrita por primera vez en el fluido crevicular de encía inflamada por Charon y col. (137) y Mergenhagen (138). La IL-1 Beta fue localizada en tejido gingival por Jadinski y col. (139) y extraída de la encía por Hönig y col. (140) Los valores de IL-1 Alfa y de IL-1 Beta en fluido crevicular, fueron valorados separadamente por Masada y col. (141), quien encontró que normalmente los niveles de IL-1 Beta eran más altos que los de IL-1 Alfa. También observaron que los niveles de IL-1 disminuyen después del tratamiento de la enfermedad periodontal. El papel de la IL-1 es múltiple, entre las más importantes están: Aumento de los niveles de prostaglandina E2 por los fibroblastos gingivales, aumento del RNA mensajero para la procollagenasa en los fibroblastos (142). Pero quizá una de las funciones más importantes sea la de activar los osteoclastos para provocar reabsorción ósea. Una linfoquina conocida por causar reabsorción ósea y anteriormente llamada factor activador de osteoclastos (OAF) se caracterizó por Dewhirst y col. como IL-1 Beta.

Estudios recientes sobre IL-6 sugieren que tiene un papel importante en la regulación del infiltrado de células plasmáticas en la enfermedad periodontal. Además el sobrenadante de las células mononucleares, estimulan la producción de células plasmáticas productoras de IgG en mayor cantidad que IgA e IgM. También inducen la producción de células plasmáticas productoras de IgG3 e IgG4. Esto puede dar lugar a un aumento de los niveles en fluido crevicular de IgG4 encontrados por Powell y col (136).

Los mediadores más estudiados que intervienen en la enfermedad periodontal, son los que pertenecen al grupo de los **metabolitos del ácido araquidónico y las metaloproteinasas.**

Aproximadamente desde hace dos décadas se sabe que la **prostaglandina E2** en cantidades determinadas, produce reabsorción ósea in vitro. Esta prostaglandina E2, se encontró a estas concentraciones en la encía y en el fluido crevicular (143). Además Offenbacher y col. demuestran que hay evidencia de que los niveles de prostaglandina E2 en fluido crevicular se correlacionan con períodos de actividad de la enfermedad (144); y proponen que niveles de PGE2 por encima de unos valores determinados, pueda ser un indicador de susceptibilidad, en pacientes con destrucción periodontal.

Las bacterias periodontales bien podrían estimular las células inflamatorias y los fibroblastos de la encía para producir citoquinas, incluyendo IL-1, TNF, IL-6, y otras que actúan estimulando la reabsorción ósea. Estas citoquinas actúan a través de los metabolitos del ácido araquidónico, principalmente las prostaglandinas. La destrucción ósea se produce por la actuación de los osteoclastos. Sin embargo el hueso, como cualquier otro tejido conectivo, no solo sufre destrucción sino que también presenta aposición, es decir, sufre un remodelado. El hueso que es removido, es posteriormente reemplazado por la actuación de los osteoblastos. Los precursores de los osteoblastos son llevados al lugar de actuación por factores quimiotácticos, y se diferencian en osteoblastos maduros capaces de sintetizar proteínas óseas, tales como: colágeno tipo I, osteocalcina, osteopontina y proteoglicanos. Una vez que la matriz proteica ha sido sintetizada y depositada, se produce la mineralización de la misma. (Fig. 16)

FACTORES DEL HUESPED Y REMODELADO OSEO

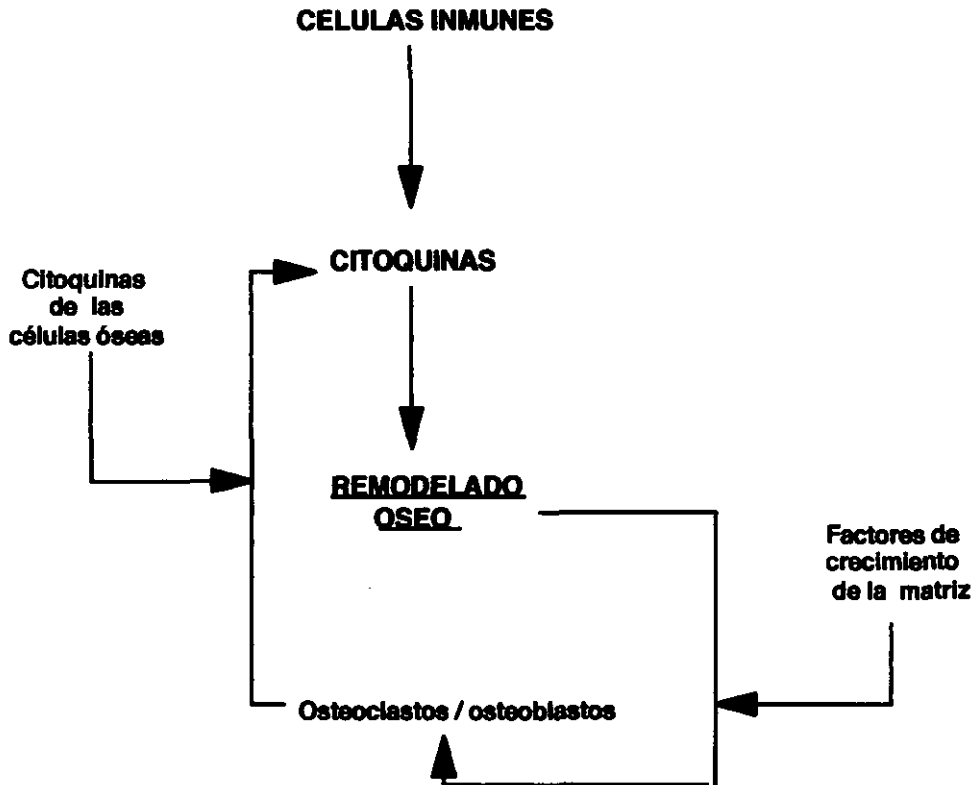


Fig. 16. Factores del huesped y remodelado óseo.

Un esquema del remodelado óseo que se produce en la enfermedad periodontal podría ser el siguiente. Las células inmunes producen citoquinas que son responsables del remodelado óseo. Este puede empezar por la reabsorción osteoclástica, produciendo la liberación de factores de crecimiento de la matriz ósea. Estos factores de crecimiento estimulan los osteoblastos que son responsables de la deposición ósea. Por lo tanto podemos observar que el conocimiento de tanto las citoquinas como de los factores de crecimiento liberados de la matriz, son dos factores de gran importancia para poder entender estos fenómenos de reabsorción/aposición ósea. La formación y activación de los osteoclastos se produce por la acción de citoquinas, que incluyen, IL-1, TNF, IL-6 y por vitamina D, los cuales aumentan la proliferación y diferenciación de los precursores de osteoclastos a partir de la línea granulocito/macrófago. El desarrollo del precursor de osteoclastos se ve acelerado por los productos de la matriz y de las células óseas que son liberados durante la reabsorción e incluyen IL-6, TGF-Beta, factor inductor de osteogénesis (OIF), calcio y fosfato. Este

proceso está controlado por INF-Gamma, TNF-Beta y receptor antagonista de la IL-1, que inhiben la diferenciación osteoclástica.

Después de la reabsorción se activan los osteoblastos por los factores de crecimiento de la matriz ósea: TGF-Beta (es el estimulante de osteoblastos más importante liberado de la matriz ósea), factor inductor de osteogénesis, proteína osteoformadora y osteogenina. Los osteoblastos también son estimulados por, TGF-Alfa, factores de crecimiento insulín-like 1 y 2, factores de crecimiento derivados de las plaquetas, factores de crecimiento derivados de los fibroblastos y posiblemente otros factores liberados en el microambiente local. La deposición ósea, al igual que la reabsorción, está también bajo estrecho control (por ejemplo, la deposición ósea está inhibida por IL-1 y TNF). (Fig. 17).

FORMACION Y ACTIVACION DE OSTEOCLASTOS

MEDULA

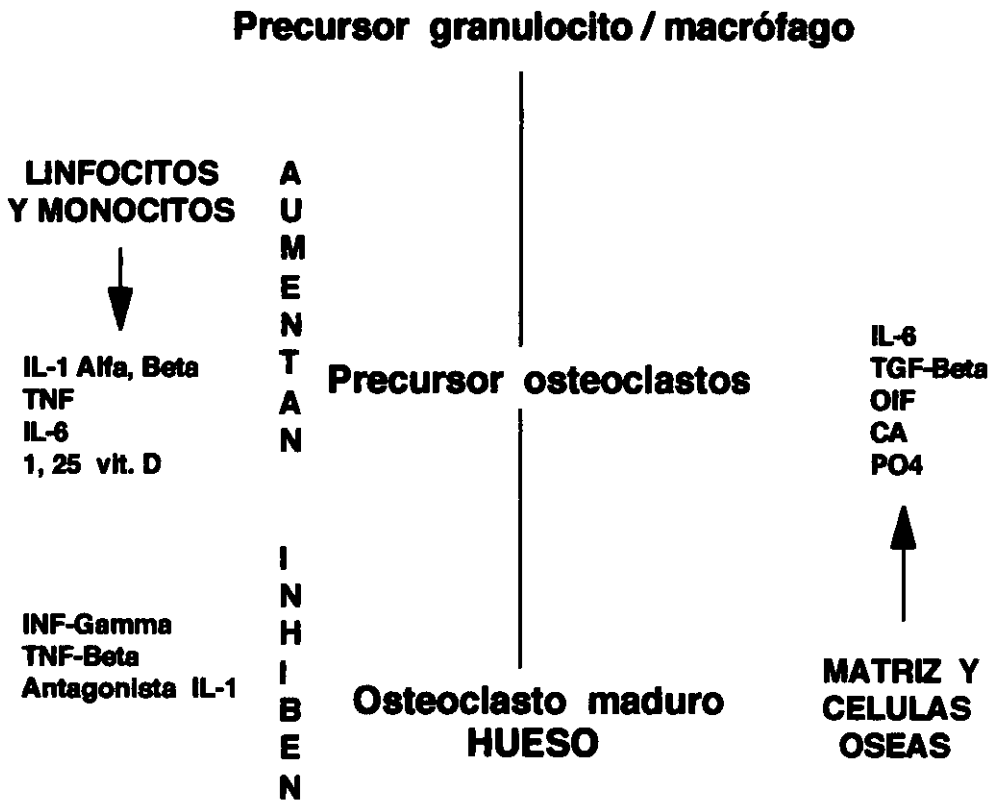


Fig. 17. Formación y activación de osteoclastos.

Está claro entonces que la evaluación de estos factores es importante para el entendimiento de la patogénesis de la enfermedad periodontal, no solo en el conocimiento de como se reabsorbe el hueso, sino como cicatriza durante los períodos de remisión o después del tratamiento. La medición de estos factores reguladores, como citoquinas, prostaglandinas y componentes de la matriz ósea, ofrecen una gran vía como posibilidad diagnóstica. La valoración de un grupo u otro de estos factores, que influyen tanto en la formación como en la actividad de los osteoclastos y osteoblastos, puede ser útil en el diagnóstico y monitorización de la enfermedad periodontal.

La degradación del tejido blando en la enfermedad periodontal, se produce por enzimas bacterianos y del huesped tales como plasmina y las **metaloproteinasas**. Estas últimas incluyen, la **colagenasa**, que es de dos tipos, el tipo fibroblasto que degrada colágeno tipo III, y el tipo neutrófilo que degrada colágeno tipo I. Las **estromalisinas**, son metaloproteinasas que dividen muchas proteínas y también superactivan las colagenasas. La **gelatinasa** actúa sobre el colágeno desnaturalizado, y también degrada colágeno tipo IV y V. Las citoquinas, IL-1 Beta, TGF- Alfa y EGF, son capaces de inducir la producción de colagenasa tipo I, IV y V por lo queratinocitos. Además las bacterias pueden activar las metaloproteinasas de forma directa, o bien de forma indirecta, a través de la estimulación de las células del huesped que producen citoquinas, las cuales inducen localmente a las células para producir colagenasas. Por lo tanto la producción de metaloproteinasas y otras enzimas destructoras de tejido, como la elastasa, y la identificación del tipo de colagenasa producido y su fuente, si es neutrófila o fibroblástica, pueden servir como medio diagnóstico de enfermedad periodontal.

El papel de otros mediadores de la inflamación, como son la histamina, serotonina y factores de la coagulación, en la enfermedad periodontal, no es actualmente muy conocido, pero es probable que sea de gran importancia. La actuación de los neuropéptidos en la modulación de la respuesta inmune en la enfermedad periodontal, es también desconocida; sin embargo es probable que jueguen un importante papel si tenemos en cuenta la importancia que tiene el estrés sobre los mecanismos de defensa a través del eje psico-neuro-inmunológico. Las preocupaciones, la angustia y la disfunción inmunológica ha sido sugerida como factor influyente en los estudios realizados en GUNA.

1.5.3.4. Sistema del complemento y enfermedad periodontal.

Muchos estudios comentan la importancia del complemento, no solo participando en la patología de la enfermedad periodontal, sino que también como protector frente a las bacterias periodontales. La importancia del complemento radica fundamentalmente en la opsonización y fagocitosis bacteriana, y en la digestión protelítica. Schenkein y Genco estudiaron la activación del complemento en el fluido crevicular, y encontraron que el cuarto componente del complemento estaba presente en un 85% del nivel sérico en pacientes con periodontitis del adulto. Por otro lado, se encontró C3 en fluido gingival en un 20% del nivel sérico (145,146). Además observaron que el C3d estaba presente en el fluido a altas concentraciones y no en suero, sugiriendo activación local en lesiones periodontales (146). Estas afirmaciones fueron confirmadas por Tollefsen y Saltvedt (147). Niekrash y Patters mostraron que la concentración de C3 aumentaba de forma importante después del

tratamiento, sugiriendo que la activación de C3 varía con la severidad de la inflamación periodontal (148).

La mayoría de los estudios hablan de que la división de C4 es observada raramente en pacientes periodontales, excepto en el caso de la periodontitis juvenil localizada (149,150). La presencia de activación de C4 en PJJ, junto con la activación de C3 y la escasa o nula activación de C4 en periodontitis del adulto, sugiere que en la PJJ se activa la vía clásica (y posiblemente también la vía alternativa), mientras que en la periodontitis del adulto se activa principalmente la vía alternativa. Estas diferencias en la activación del complemento puede ser perfectamente debida a los altos niveles de anticuerpos frente al A.A. encontrados en el suero y fluido crevicular de pacientes con PJJ.

La división de los distintos componentes del complemento en el fluido crevicular, indica un medio importante para poder diferenciar entre las distintas enfermedades periodontales y como medio diagnóstico para distinguir salud de enfermedad.

2. HIPOTESIS Y OBJETIVOS

La hipótesis de este trabajo es establecer el mapa citológico mediante técnicas inmunohistoquímicas, en dos tipos de periodontitis con progresión diferente, y su evolución a lo largo de nueve meses postratamiento. Por otro lado estudiamos también los cambios en estas dos periodontitis desde un punto de vista clínico, estableciendo una posible correlación clínico-histológica.

2.1. Objetivos.

- 1.- Comparación de la respuesta clínica en dos tipos de periodontitis con progresión diferente y su evolución a lo largo de nueve meses postratamiento.
- 2.- Estudiar las diferentes poblaciones linfocitarias en periodontitis rápidamente progresiva. (T4, T8, T4 / T8, B)
- 3.- Estudiar las diferentes poblaciones linfocitarias en periodontitis crónica del adulto. (T4, T8, T4 / T8, B)
- 4.- Estudiar la presencia de células de Langerhans y su importancia inmunológica en ambos tipos de periodontitis.
- 5.- Estudiar la presencia de las células Natural-Killer y su importancia inmunológica en ambos tipos de periodontitis.
- 6.- Correlacionar los hallazgos clínicos e inmunohistoquímicos en ambos tipos de periodontitis.

3- MATERIAL Y METODO

3.1 POBLACION ESTUDIO.

Para este estudio hemos seleccionado 24 pacientes, de entre los que acuden a las consultas del Master de Periodoncia de La Facultad de Odontología de La Universidad Complutense de Madrid. De acuerdo a unos criterios basados en registros clínicos y radiológicos, los hemos clasificado en pacientes afectos de periodontitis crónica del adulto y periodontitis rápidamente progresiva. (46,47,151,152)

A) CRITERIOS DE INCLUSION.

Periodontitis crónica del adulto

- Edad: Pacientes de más de 40 años.
- Que presenten entre un 20 - 30% de pérdida ósea definida radiológicamente.
- Al menos una bolsa de 5 mm. por cuadrante o, dos o más bolsas cada 2 cuadrantes.

Periodontitis rápidamente progresiva.

- Edad: Pacientes con menos de 35 años.
- Que presenten un 30% de pérdida ósea definida radiológicamente.
- Al menos una bolsa de 5 mm. por cuadrante o, dos o más bolsas cada 2 cuadrantes.

B) CRITERIOS DE EXCLUSION.

- Enfermedad sistémica.
- Medicación sistémica con efectos sobre periodonto.
- Embarazo.

C) DISTRIBUCION DE LA POBLACION.

De acuerdo a esta clasificación y a estos criterios la distribución de la población para este estudio es como sigue:

- 10 Pacientes con PCA.

3 varones

7 hembras

Edad media: 44 Rango: 38-52

- 14 Pacientes con PRP.

4 varones

10 hembras.

Edad media: 32 Rango: 27-34

3.2. PARAMETROS CLINICOS. (153-179)

En cada paciente, y en cada visita de acuerdo al diseño experimental, hemos valorado los siguientes parámetros clínicos.

- a) Profundidad de sondaje.
- b) Nivel de inserción.
- c) Índice de placa (presencia/ausencia).
- d) Sangrado al sondaje (presencia/ausencia).

Para la toma de todos los registros, utilizamos una sonda electrónica computerizada de presión constante (Florida Probe). La sonda Florida es un sistema que incluye: 2 posibles piezas de mano; una para obtener la profundidad de sondaje y otra para controlar el nivel de inserción (disc probe). Un transductor de señal, de lectura digital. Un pedal, que al presionarlo manda la señal. Y un ordenador con impresora que almacena y analiza los datos.

El registro electrónico de los datos, elimina posibles errores cuando utilizamos una sonda convencional, ya que esta se basa en la detección visual de los mismos. Por otro lado, al almacenar los registros en un ordenador, posibilita la comparación y análisis de los datos entre las diferentes visitas, observando con rapidez y facilidad los cambios obtenidos.

La sonda Florida tiene una precisión de 0,1 mm. (la convencional de 1 mm.). Un rango de 10 mm. Fuerza constante de 25 grs. Fácil de usar en cualquier localización de la boca. Esterilizable. Y no es un método cruento o invasivo que pueda dañar la salud del paciente.

La desviación estándar en mediciones repetidas de profundidad de sondaje y de nivel de inserción, es menor con la sonda Florida, que con la sonda convencional. Podemos detectar con una aproximación del 99% y utilizando el método de la tolerancia recomendado por Haffajee y colaboradores, una pérdida de inserción de 1mm. Esto implica una gran mejoría en relación con las sondas convencionales, que requieren una pérdida de inserción de 2-3 mm, para poder ser detectadas. Por lo tanto la sonda Florida como método diagnóstico es más exacto, y podemos detectar de forma más temprana la progresión de la enfermedad periodontal (pérdida de inserción), que con las sondas convencionales.

a) Profundidad de sondaje.

Para calcular la profundidad de sondaje con la sonda Florida, se coloca la pieza de mano correspondiente sobre el margen gingival. Una vez allí se desliza la punta de la sonda, a través del manguito que tiene la pieza de mano, hasta el fondo de la bolsa, a la vez que se pisa el pedal quedando registrada la distancia que hay desde el manguito hasta el final de la sonda, que es equivalente a la profundidad de la bolsa.

b) Nivel de inserción.

En las visitas 1 y 2, calculamos el nivel de inserción con una sonda periodontal convencional, tomando como punto fijo la línea amelocementaria. En las visitas 3 y 4, lo medíamos con la sonda Florida, (con la pieza de mano apropiada para ello, el disc probe). Es similar a la pieza de mano que se utiliza para la profundidad de sondaje, pero con la variación de que presenta un disco, que va a hacer tope sobre las caras oclusales de los dientes, para así poder tomar medidas perfectamente reproducibles. Por lo tanto con este aditamento, tenemos como punto fijo para calcular la posible variación en el nivel de inserción (ganancia o

pérdida), las caras oclusales de los dientes y como punto variable el fondo de la bolsa.(Es un nivel de inserción relativo).

c) Índice de placa.

Para este estudio hemos utilizado el índice de placa dicotómico, es decir, presencia o ausencia de placa al pasar la sonda por el cuello dentario, a nivel del margen gingival. Hemos analizado 3 superficies por vestibular (mesial, medial y distal) y 1 por lingual o palatino. Lo hemos realizado también con la sonda Florida, ya que al presionar el pedal queda registrada la presencia o ausencia de placa en la ficha del paciente que tiene en el ordenador.

d) Sangrado al sondaje.

Con la sonda Florida también podemos marcar en la ficha del paciente, la presencia o ausencia de sangrado al sondaje en cada uno de los puntos analizados. Hemos estudiado 3 puntos por vestibular (mesial, medial y distal) y 1 por lingual o palatino.

3.3. PARAMETROS HISTOPATOLOGICOS.

La obtención de muestras se llevó a cabo tomando 2 biopsias de cada paciente, de 2 zonas establecidas el día de la selección de los pacientes; una como clínicamente enferma (definida como aquella localización de más de 5 mm. de profundidad de sondaje) y otra como clínicamente sana (definida como aquella localización de menos de 5 mm. de profundidad de sondaje).

El acto quirúrgico para la toma de biopsia, se efectuó bajo anestesia local y mediante el punch Stiefel cilíndrico de 3 mm. de diámetro, perpendicular a la superficie oral de la encía, obteniéndose epitelio oral, tejido conectivo y epitelio de la bolsa. Recogidas ambas piezas quirúrgicas (enferma y sana), se lavaron con suero fisiológico. Se procedió a la fijación de la pieza sana, en formol neutro tamponado y se envía al laboratorio de Anatomía Patológica del Hospital Clínico San Carlos de Madrid, para proceder a su inclusión y posterior corte y tinción; para luego realizar el estudio histológico convencional. La pieza de tejido enfermo, una vez lavada con suero, se procedió a su fragmentación en dos partes iguales (con pinzas quirúrgicas y cuchilla Gillette). Con una de las partes se procedió de igual manera que con la pieza sana, para estudio histopatológico convencional. La otra parte de la

pieza enferma se traslada en fresco al laboratorio para su procesamiento inmediato (congelación en nitrógeno líquido), corte (microtomo criostato) y preparación para estudio de los distintos tipos celulares del infiltrado inflamatorio con técnicas inmunohistoquímicas.

3.3.1. TECNICAS HISTOLOGICAS CONVENCIONALES (180)

a) H-E.

Las piezas fijadas en formol se procesaron según los procedimientos habituales de inclusión en parafina, obteniéndose cortes seriados de 6 micras y se tiñeron en el laboratorio del Hospital Clínico San Carlos, según el procedimiento habitual para esta técnica.

b) Tricómico de Masson.

En el mismo laboratorio, obteniéndose cortes de 6 micras y según el siguiente procedimiento.

- 1.- Desparafinación e hidratación con agua destilada.
- 2.- Se mantiene durante toda la noche, a temperatura ambiente.
- 3.- Lavar con agua corriente hasta que el color amarillo desaparece.
- 4.- Lavar en agua destilada.
- 5.- Solución de hematoxilina férrica de Weigert durante 10 minutos. Lavar en agua corriente 10 minutos.
- 6.- Lavar en agua destilada.
- 7.- Solución de fucsina ácida escarlata durante 2 minutos.

Escarlata acuosa, 1%.....	90,0 ml.
Fucsina ácida acuosa, 1%.....	10,0 ml.
Acido acético glacial.....	1,0 ml.
- 8.- Lavar en agua destilada.

9.- Solución verde luz durante 1 minuto.

Verde luz, amarillento.....2,0 gm.
 Agua destilada.....98,0 ml.
 Acido acético glacial.....1,0 ml.

10.- Lavar en agua destilada

11.- Solución ácido acético glacial de 3 a 5 minutos.

12.- Deshidratar en alcohol de 95%, alcohol absoluto y aclarar
 en xileno, dos cambios cada uno.

13.- Montar con Permount o Histoclad.

Los resultados que se obtienen con esta técnica son:

- Núcleo.....Azul.
- Citoplasma, queratina, fibras musculares y fibras
 intercelulares.....Rojo.
- Colágeno.....Verde.

Con estas técnicas convencionales y en cada examen, se analizan las siguientes variables:

- Epitelio: Espesor de epitelio oral.
 Queratinización.
 Granulosis.

- Corion: Neoangiogénesis.
 Degeneración del colágeno.
 Infiltrado inflamatorio.

Para el análisis morfométrico de estas variables, se utilizó un Microscopio Olympus BH-2. El espesor del epitelio oral se cuantificaba en micras, con un ocular (X10) y una cuadrícula, teniendo que multiplicar el resultado final por 8. Con el resto de las variables obteníamos datos semicuantitativos y la presencia se valoraba como sigue:

- : No existe.
- +/- : Mínimo.
- + : Leve.
- ++ : Moderado.
- +++ : Avanzado.

3.3.2. INMUNOHISTOQUIMICA.

Desde principios de los años setenta se han introducido nuevas técnicas de objetivización de antígenos en los tejidos, basadas en la posibilidad de unir químicamente un anticuerpo a una enzima.

Los anticuerpos necesarios para ello se obtienen por medio de hibridomas, cuya técnica de producción fue descubierta por Kohler y Milstein (181) y la búsqueda de la enzima ideal se prolongó hasta 1966, año en el que Nakano y Pierce (182) utilizaron con éxito la peroxidasa de rábano.

Como es bien conocido, los antígenos reaccionan con los anticuerpos, que a su vez tienen determinantes antigénicos que les permiten actuar como antígenos para reaccionar con otros anticuerpos: así se pueden formar cadenas casi ilimitadas de antígenos y anticuerpos. El marcaje del último anticuerpo con una enzima como la peroxidasas, que tenga la propiedad de inducir una reacción coloreada en un sustrato determinado como la diaminobencidina (DAB), permite la identificación de los antígenos contenidos en las células y tejidos.

La peroxidasa, con su sustrato específico, el peróxido de hidrógeno, reacciona en una primera fase formando un complejo que seguidamente interacciona con el cromógeno 3-3'diaminobencidina (DAB, tetracloruro de 3-3'diaminobencidina), quedando esta última en estado oxidado. Las moléculas de DAB, una vez oxidadas, presentan una serie de radicales libres que reaccionan entre sí para formar polímeros insolubles de color marrón oscuro (polímeros de indamina y fenacina). Estos compuestos resisten a los solventes de los lípidos, por lo que es posible realizar preparaciones microscópicas permanentes.

Desde el descubrimiento de la técnica de producción de hibridomas en 1975, los anticuerpos monoclonales han sido usados en varias ramas de la medicina y se han producido cientos de ellos, que reaccionan con diferentes linfocitos. La proliferación de nombres

provoca cierta confusión, ya que muchos anticuerpos a los que se les ha dado distinto nombre reaccionan con el mismo antígeno. Con el fin de clarificar los términos, se han agrupado los anticuerpos que reconocen antígenos similares en grupos, llamados "clusters of differentiation" (CD) o grupos de diferenciación. (99).

Así y refiriéndonos únicamente a los utilizados en este trabajo: (Fig. 18).

Grupos de diferenciación (CD)	Anticuerpo utilizado	Especificidad
CD ₂	T ₁₁	Receptor para eritrocitos de carnero presente en todas las células T.
CD 4	T ₄	Linfocitos T cooper./ induct.
CD 8	T ₈	Linfocitos T supres./ citotox.
CD 22	PAN B	Subpoblación B
	LEU 7	"Natural Killer"
	la	Linf. B, monocitos, macrófagos, C. de Langerh. y linf T act.

Fig. 18. Anticuerpos utilizados en el estudio.

Los anticuerpos usados, fueron producidos por Dako Corporation, Santa Bárbara, California.

Descripción de la técnica utilizada (Inmunoperoxidasa).

Las piezas fueron cortadas en secciones de 5-6 micras con un criostato a -30°C y montado sobre portas, habiéndose dejado 15 minutos el material en el criostato antes de cortarlo.

Se deja secar al aire 30-60 minutos.

Es fijado con acetona fría durante 10 minutos.

Se deja secar al aire 5 minutos.

Se introduce en cloroformo 20 minutos.

Secado 2-3 minutos al aire.

Incubado con el anticuerpo primario en cámara húmeda un tiempo no menor de 30-45 minutos. Las diluciones utilizadas para los anticuerpos fueron las siguientes: T_4 1/10; T_8 1/25; T_{11} 1/75; B 1/100; Ia 1/100 y Leu 7 1/5.

Lavado con TRIS PH 7,6; secado alrededor del corte.

Incubado con el suero puente (RAM: rabbit anti mouse, DAKO P-161 marcado con peroxidasa) a dilución 1/50 en una solución de TRIS (2 partes) más suero humano normal (1 parte).

Lavado con TRIS PH 7,6; secado alrededor del corte.

Revelado con diaminobencidina + H_2O_2 al 3% un máximo de 10 minutos.

Lavado con TRIS.

Se contrasta con hematoxilina 15 minutos.

Lavado con agua corriente.

Se deshidrata mediante paso por alcoholes de graduación creciente.

Se monta en bálsamo utilizando como solvente intermedio el xilol.

Las preparaciones son archivables de forma permanente.

Para la cuantificación de las distintas células, separábamos los dos epitelios (oral y de la bolsa) del conectivo, y este a su vez lo dividíamos en tres partes (conectivo superficial, conectivo profundo y conectivo subyacente a epitelio de la bolsa) según esquema (Fig. 19). En cada zona se analizaron: Linfocitos T, T₄, T₈, B, Células Natural Killer, Linfocitos activados y Células de Langerhans. Los contajes de células teñidas se hicieron por el mismo observador en todos los casos, con un microscopio OLYMPUS BH-2 provisto de monitor Sony KX-14 CP1 con adaptador Sony CCD, con un ocular x10 aumentos y un objetivo x40 aumentos, valorando en el campo del monitor las zonas donde más infiltrado hubiese. En el conectivo cercano a ambos epitelios, tuvimos en cuenta que se viese la cresta de dichos epitelios en el campo del monitor. Para el contaje de las células de Langerhans, analizábamos 5 campos y se calculaba la media.

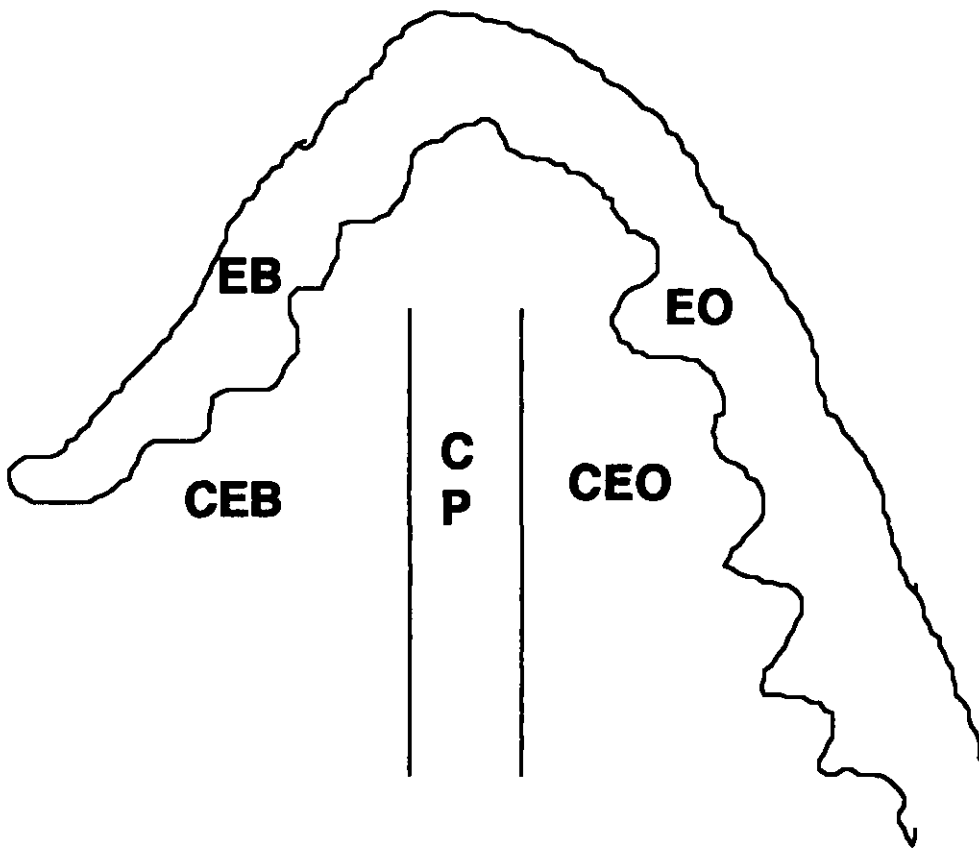


Fig. 19. Esquema que ilustra los diferentes compartimentos estudiados en la encía. EB: Epitelio de la bolsa. EO: Epitelio oral. CEO: Conectivo próximo al epitelio oral. CP: Conectivo profundo. CEB: Conectivo subyacente al epitelio de la bolsa.

3.4 DISEÑO EXPERIMENTAL.

Los pacientes fueron seleccionados en la clínica periodontal del Master de Periodoncia de La Facultad de Odontología (UCM - Madrid) de acuerdo a un diagnóstico clínico y radiológico de presunción. En base a unos criterios de inclusión estos pacientes fueron clasificados en PCA y PRP. Una vez seleccionados fueron citados a las 4 semanas para el comienzo del estudio. En esta visita basal se realizó: 1) Toma de muestra de fluido crevicular para estudio bioquímico. 2) Toma de muestra de placa subgingival para análisis microbiológico. 3) Estudio de los parámetros clínicos anteriormente definidos. 4) Toma de biopsia para estudio histopatológico. En esta visita se le prescribe a los pacientes un

antibiótico vía sistémica (metronidazol 250 mgr./8h.) durante una semana. Pasada esta semana, se cita nuevamente a los pacientes (visita 1) para nueva toma de muestras (excepto biopsia) y registros clínicos; para conocer la respuesta inmediata a los antibióticos. A partir de aquí y en 2 semanas se les realiza tratamiento básico a los pacientes (instrucciones en higiene oral y raspaje / alisado de toda la boca por cuadrantes). Pasadas estas dos semanas se les cita otra vez (visita 2) para nueva toma de muestras (excepto biopsia) y registros clínicos; para conocer la respuesta inmediata al tratamiento realizado. A las ocho semanas de la visita 2, se les vuelve a citar (visita 3) y se les realiza una toma completa de muestras (incluida biopsia) y de registros clínicos. A partir de aquí se instaura un programa de mantenimiento periodontal, cada tres meses hasta completar el año. En cada visita de mantenimiento se repetirá la batería completa de muestras y registros clínicos. (Fig. 20).

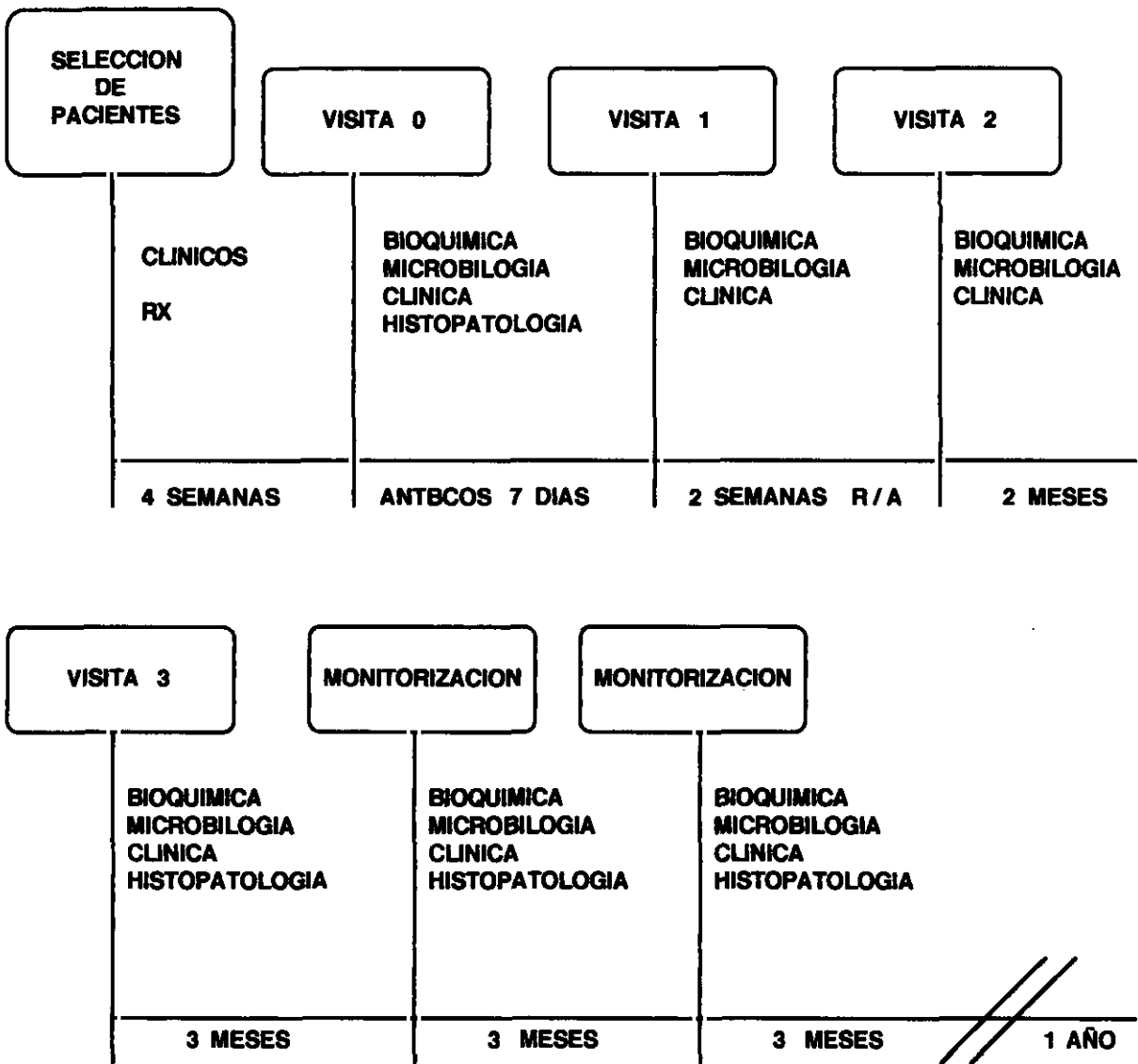


Fig. 20. Diseño experimental del estudio.

3.5 ANALISIS DE LOS DATOS. ESTUDIO ESTADISTICO.

Para el análisis de presencia / ausencia de placa supragingival y sangrado utilizamos el test de chi cuadrado, para datos cualitativos nominales.

Para el estudio de la profundidad de sondaje y nivel de inserción (datos cuantitativos) utilizamos la t de student.

En la valoración de los datos histológicos hemos transformado una variable ordinal en semicuantitativa, analizándolo por tanto con la t de student.

Con los resultados de inmunohistoquímica (datos cuantitativos) usamos también la t de student.

4. RESULTADOS

4.1. RESULTADOS CLINICOS.

1) Índice de placa.

El índice utilizado, es presencia / ausencia de placa supragingival. En el inicio del estudio (día 0), las zonas definidas como sanas (PRP-S, PCA-S) presentan mayor cantidad de placa que las zonas definidas como enfermas (PRP-E, PCA-E) y esta diferencia es estadísticamente significativa. En la primera visita de mantenimiento, la cantidad de placa disminuye en todos los casos salvo para la PRP-E que se mantiene en los mismos porcentajes (25%) siendo esta disminución estadísticamente significativa en las zonas sanas, sin embargo a los 6 meses (2ª visita de mantenimiento) se produce una recaída en los niveles de control de placa, que persiste en la última exploración, salvo para PCA-E que vuelve a disminuir. (Tabla 1, gráficas 1, 2, 3, 4).

PLACA %

	PRP-E	PCA-E	PRP-S	PCA-S
DIA 0	25	22,22	75	88,88
3M	25	0	33,33	42,85
6M	37,5	33,33	62,5	16,66
9M	40	0	60	20

Tabla 1. Porcentaje medio de presencia de placa en las diferentes localizaciones.

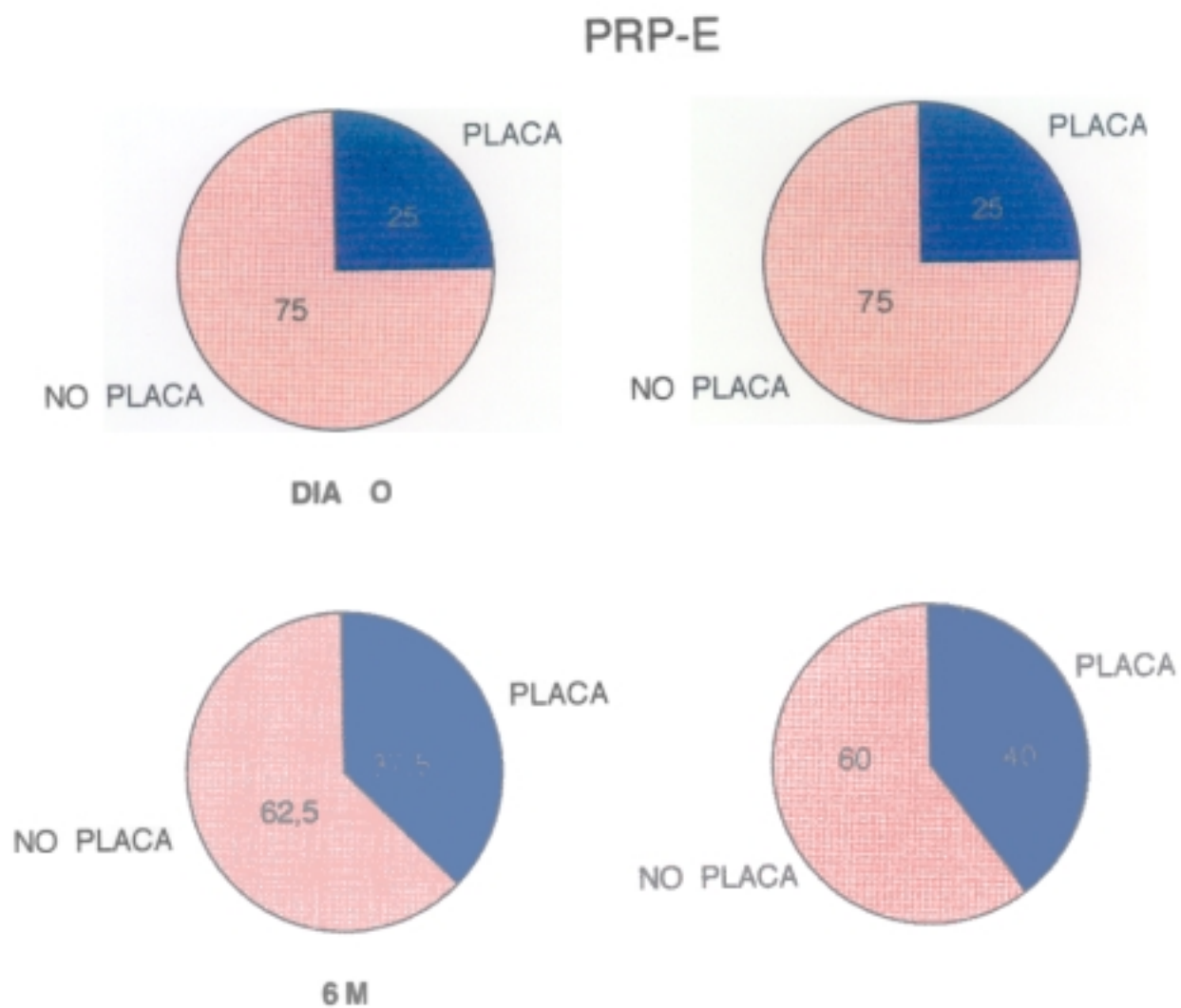
—: Estadísticamente significativo. $P \leq 0,05$.

PRP-E: Periodontitis rápidamente progresiva localización enferma.

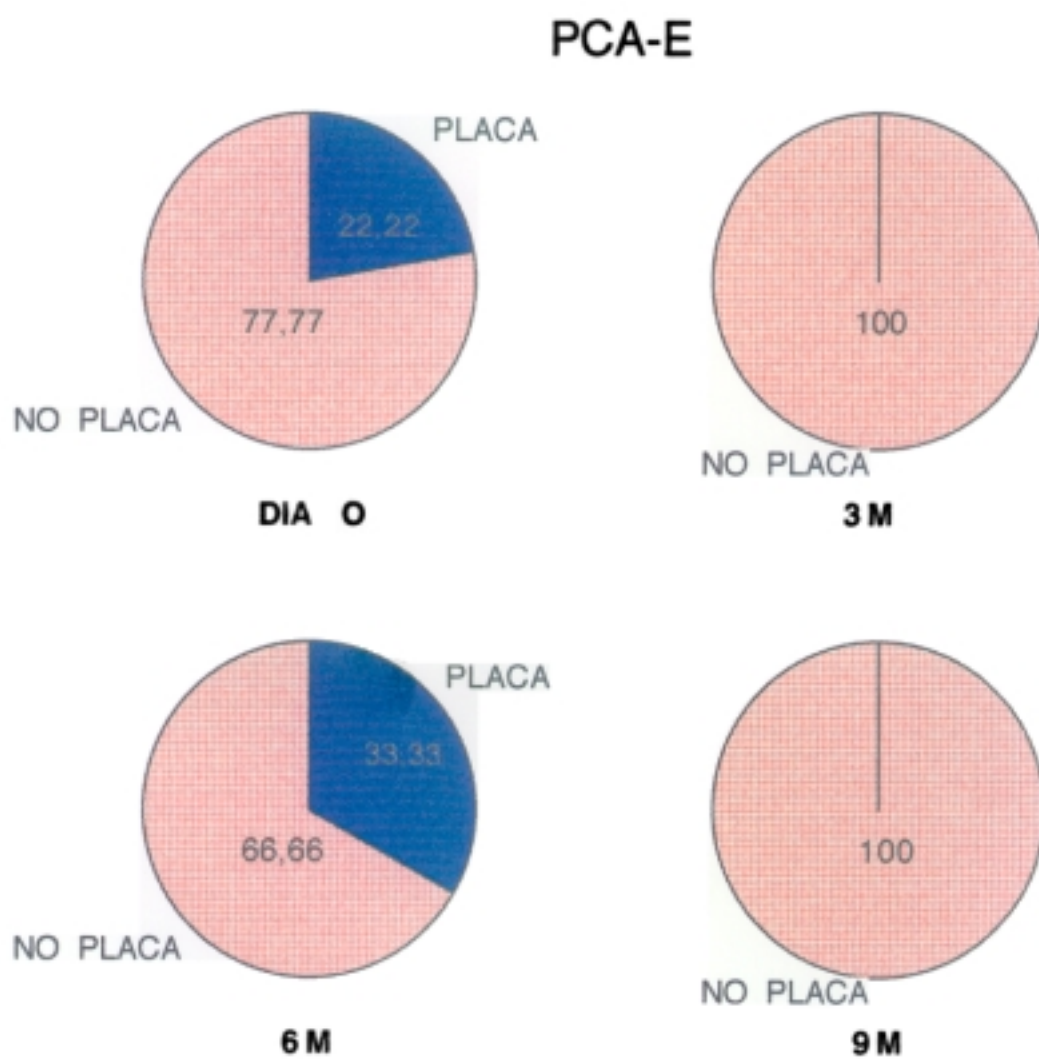
PCA-E: Periodontitis crónica del adulto localización enferma.

PRP-S: Periodontitis rápidamente progresiva localización sana.

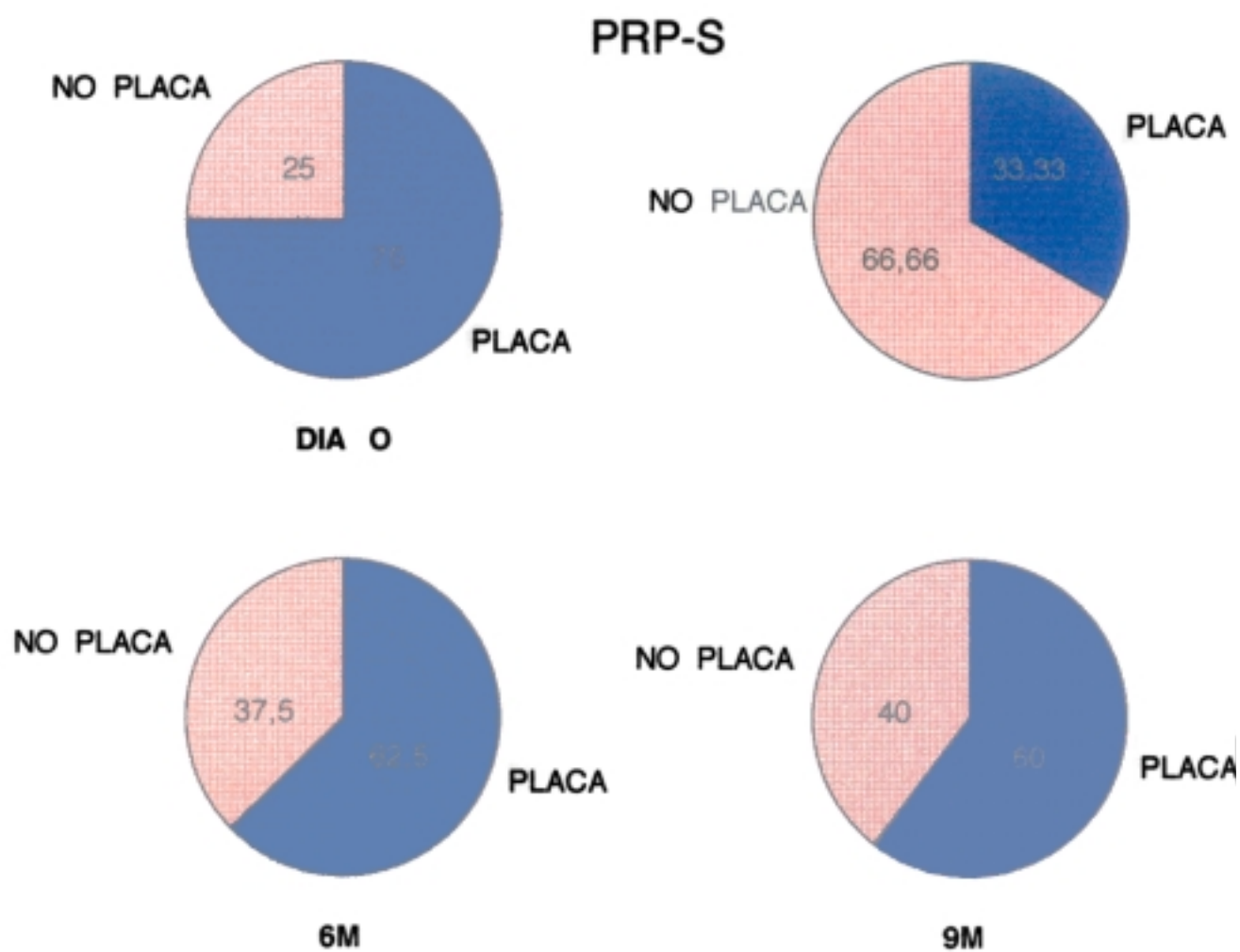
PCA-S: Periodontitis crónica del adulto localización sana.



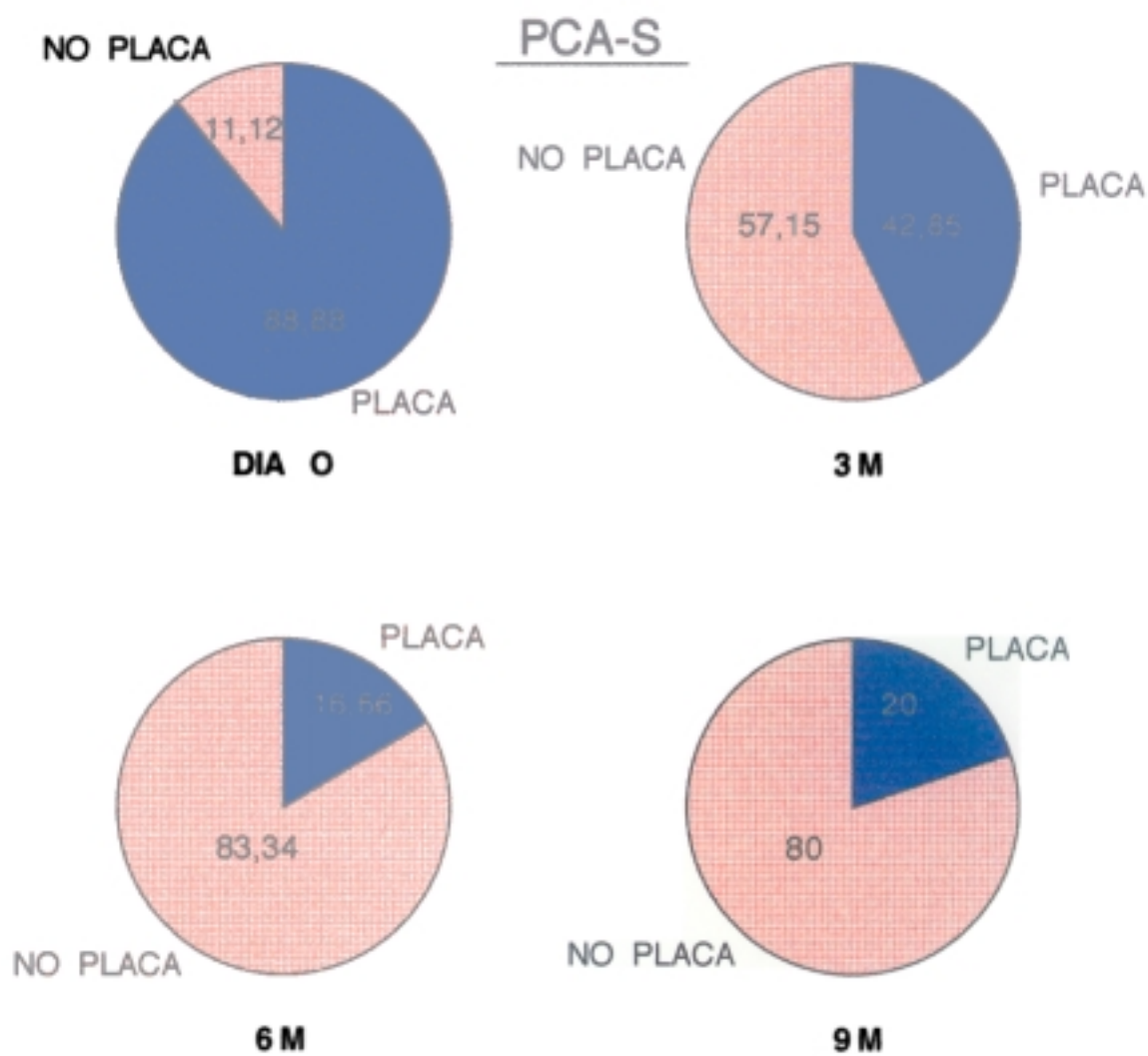
Gráfica 1. Porcentaje medio de presencia/ausencia de placa en las localizaciones PRP-E.



Gráfica 2. Porcentaje medio de presencia/ausencia de placa en las localizaciones PCA-E.



Gráfica 3. Porcentaje medio de presencia/ausencia de placa en las localizaciones PRP-S.



Gráfica 4. Porcentaje medio de presencia/ausencia de placa en las localizaciones PCA-S

2) Sangrado al sondaje.

Al contrario que en el índice de placa, al inicio del estudio (día 0), el porcentaje de localizaciones con sangrado al sondaje era superior en las zonas enfermas (y mayor en PCA-E que en PRP-E) que en las sanas, siendo estas diferencias estadísticamente significativas para la PRP. Las localizaciones correspondientes a PRP-E tras el tratamiento y en las citas de mantenimiento 1 y 2, mantuvieron unos niveles altos de sangrado similares a los de la visita 0, para aumentar al final del estudio por encima de los niveles iniciales. La evolución en la PCA-E fue muy similar, aunque en estas zonas se produjo una importante disminución después del tratamiento, que luego fue aumentando paulatinamente a lo largo del estudio, hasta llegar a niveles ligeramente inferiores a los iniciales. Al final del estudio el porcentaje de localizaciones con sangrado al sondaje era mayor en PRP-E que PCA-E. (Tabla 2, gráficas 5, 6, 7, 8).

SANGRADO (%)

	PRP-E	PCA-E	PRP-S	PCA-S
DIA 0	66,66	77,77	25	44,44
3M	66,66	42,85	25	14,28
6M	62,5	50	37,5	0
9M	80	60	20	40

Tabla 2. Porcentaje medio de sangrado al sondaje en las distintas localizaciones.

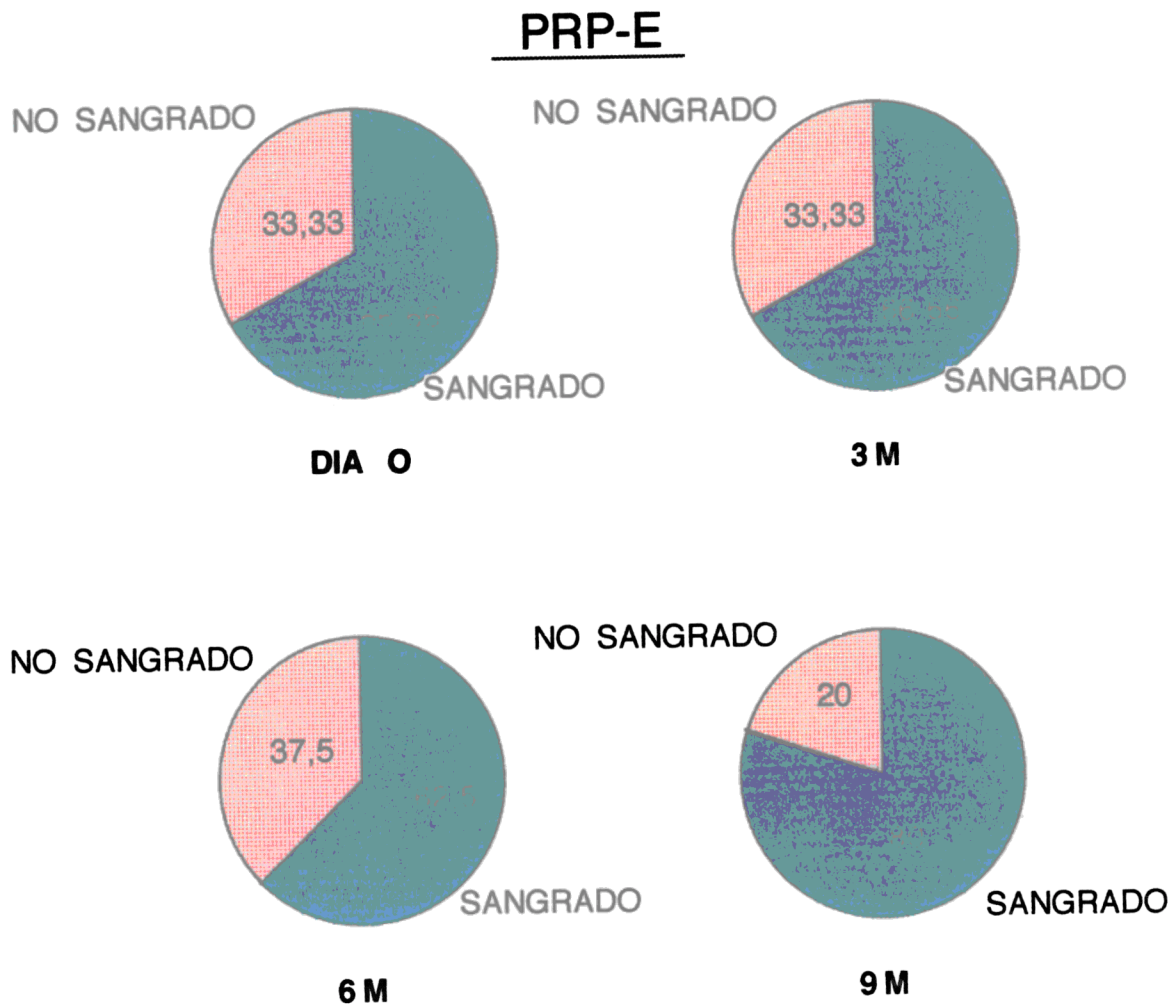
_____: Estadísticamente significativo. $P: \leq 0,05$

PRP-E: Periodontitis rápidamente progresiva localización enferma.

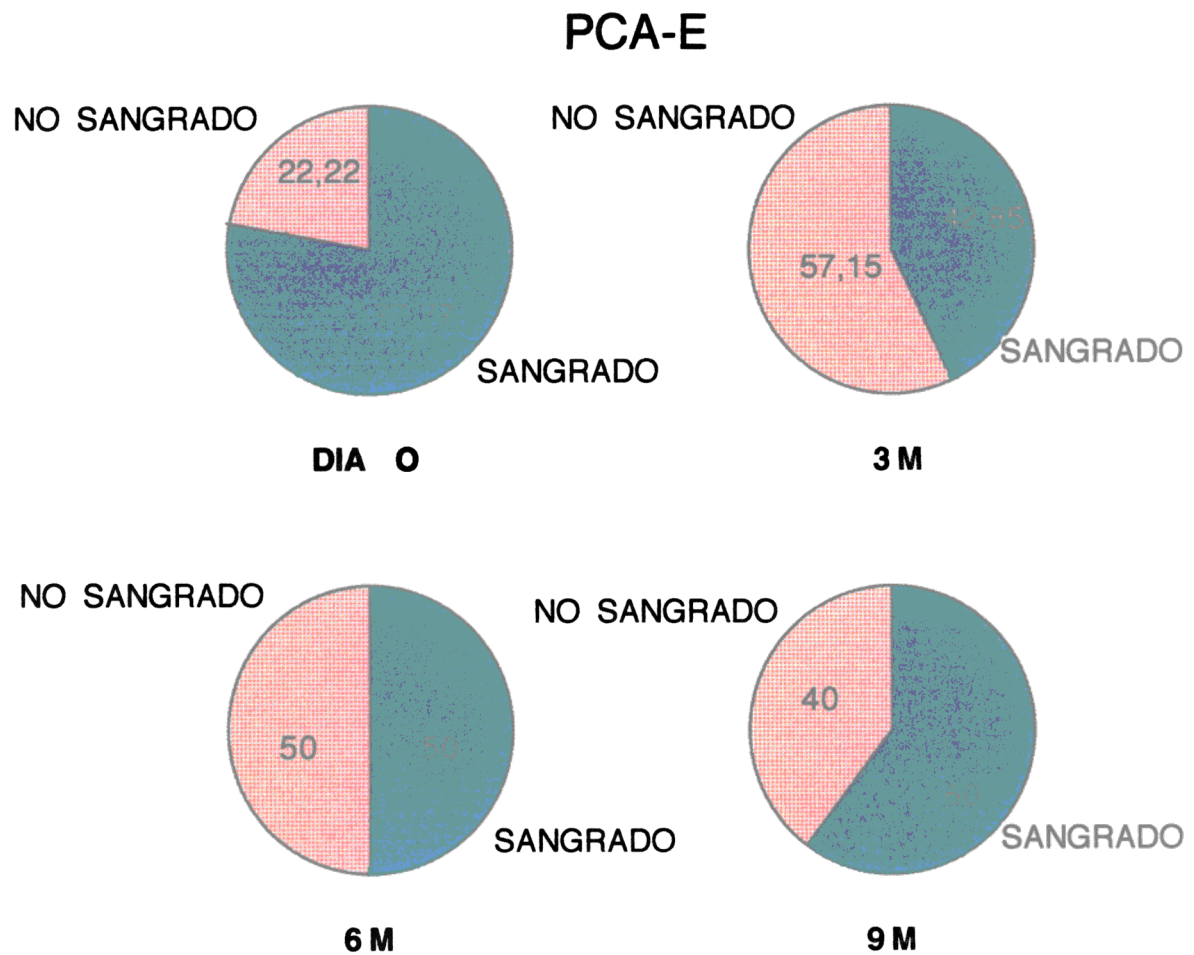
PCA-E: Periodontitis crónica del adulto localización enferma.

PRP-S: Periodontitis rápidamente progresiva localización sana.

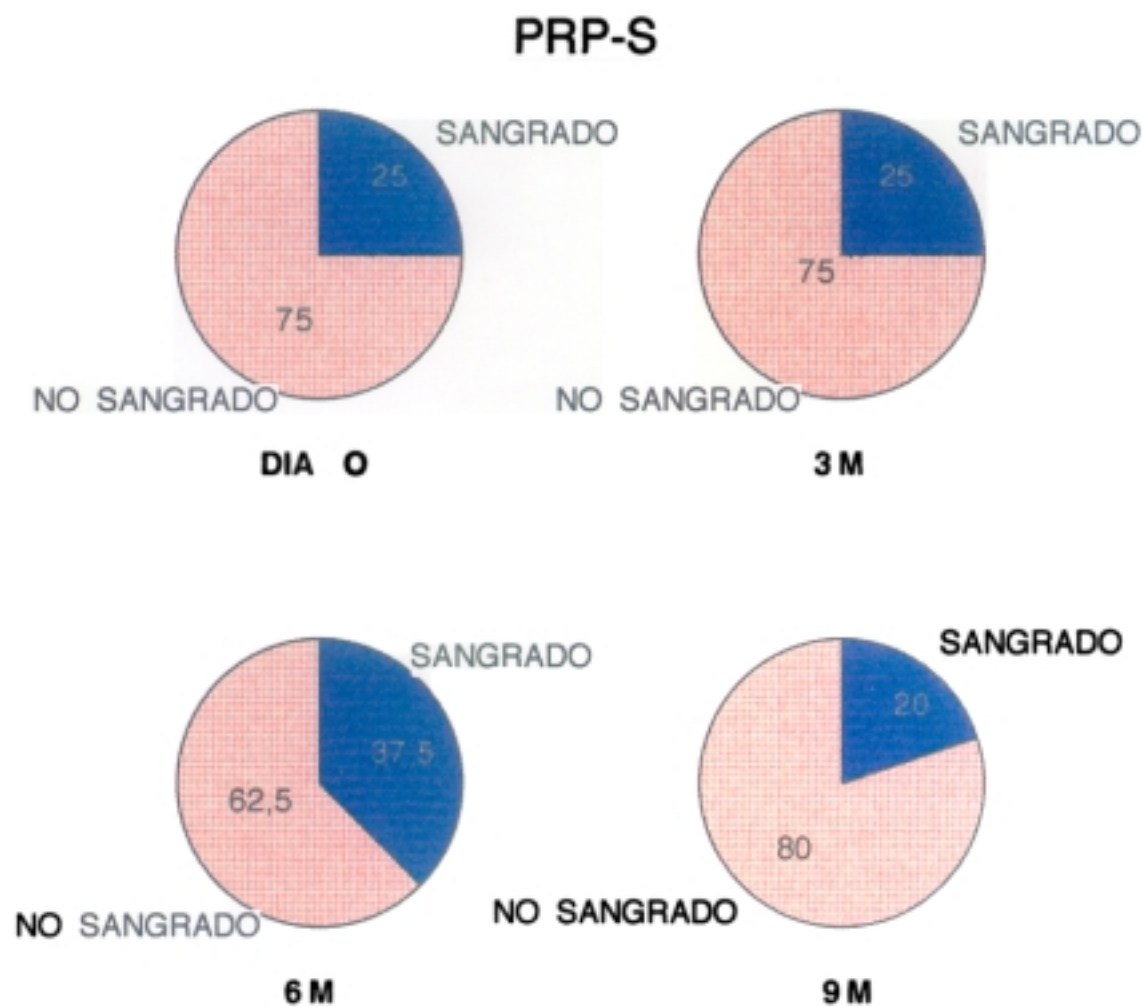
PCA-S: Periodontitis crónica del adulto localización sana.



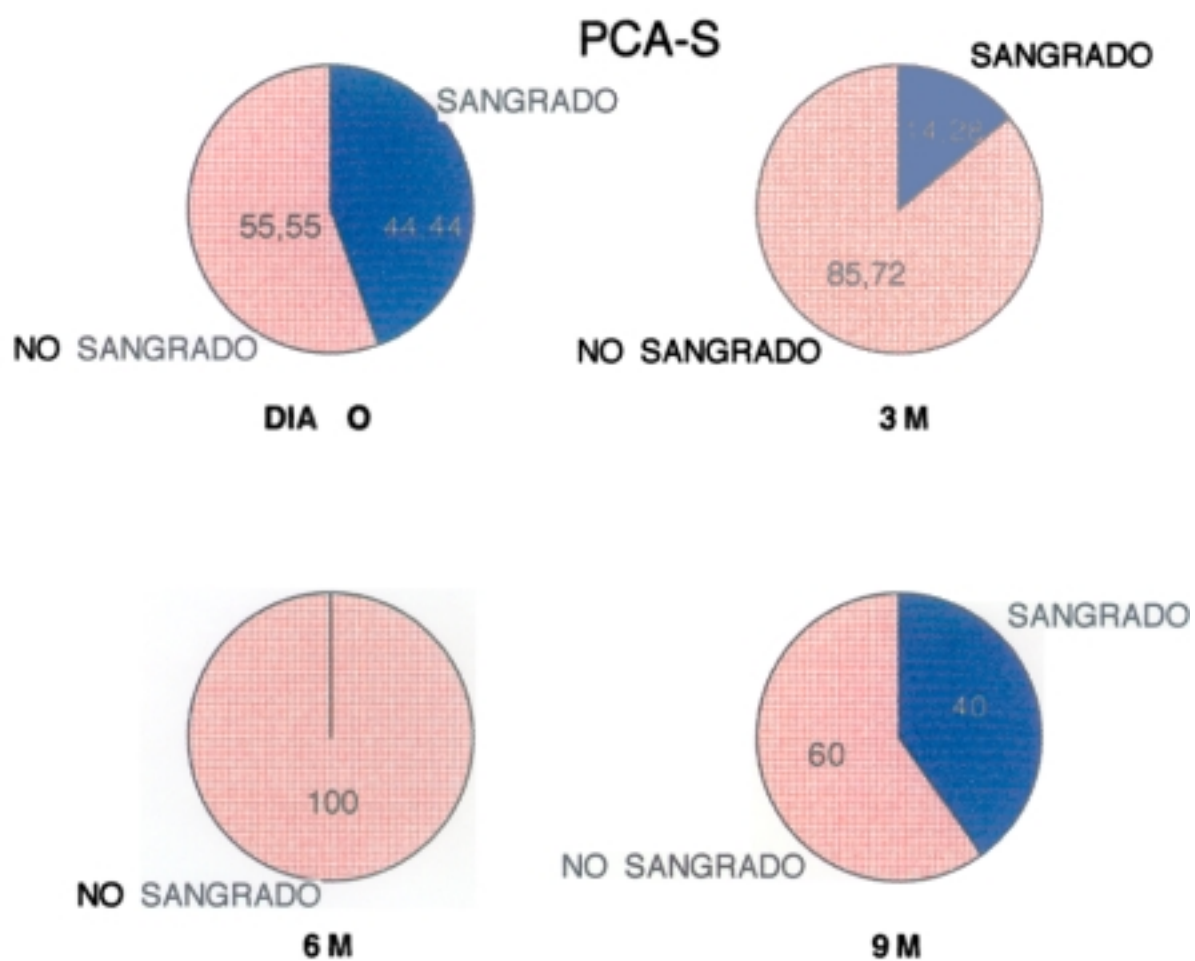
Gráfica 5. Porcentaje medio de presencia/ausencia de sangrado en las localizaciones PRP-E.



Gráfica 6. Porcentaje medio de presencia/ausencia de sangrado en las localizaciones PCA-E.



Gráfica 7. Porcentaje medio de presencia/ausencia de sangrado en las localizaciones PRP-S



Gráfica 8. Porcentaje medio de presencia/ausencia de sangrado en las localizaciones PCA-S.

3) Profundidad de sondaje.

Las localizaciones al inicio del estudio presentaban una profundidad de sondaje media de: PRP-E: 5,98 \pm 1,37. PCA-E: 5,53 \pm 1,64. PRP-S: 2,1 \pm 1,24. PCA-S: 1,88 \pm 0,67. Estas diferencias entre PRP-E y PRP-S, PCA-E y PCA-S son estadísticamente significativas, pero no entre PRP-E y PCA-E. Una vez realizado el tratamiento y en la 1ª visita de mantenimiento la profundidad de sondaje disminuyó en todos los grupos siendo estadísticamente significativa para PRP-E (5,98 \pm 1,37; 3,55 \pm 1,27) y PCA-E (5,53 \pm 1,64; 3,34 \pm 0,62), no habiendo significación intergrupos. Esta disminución en la profundidad de sondaje se mantuvo a lo largo del estudio no habiendo significación intragrupos ni intergrupos.

Por lo tanto la disminución en la profundidad de sondaje fue similar tanto para la periodontitis rápidamente progresiva como para la periodontitis crónica del adulto, no habiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. (Tabla 3, gráfica 9.)

PROFUNDIDAD DE SONDAJE

	PRP-E	PCA-E	PRP-S	PCA-S
DIA 0	5,98 \pm 1,37	5,53 \pm 1,64	2,1 \pm 1,24	1,88 \pm 0,67
3M	3,55 \pm 1,27	3,34 \pm 0,62	1,61 \pm 0,65	1,37 \pm 0,35
6M	3,97 \pm 1,73	3,4 \pm 1,21	1,87 \pm 1,23	1,46 \pm 0,39
9M	3,88 \pm 0,54	3,68 \pm 1,30	2,08 \pm 1,48	1,44 \pm 0,29

Tabla 3. Profundidad de sondaje media \pm desviación estándar, en las diferentes localizaciones.

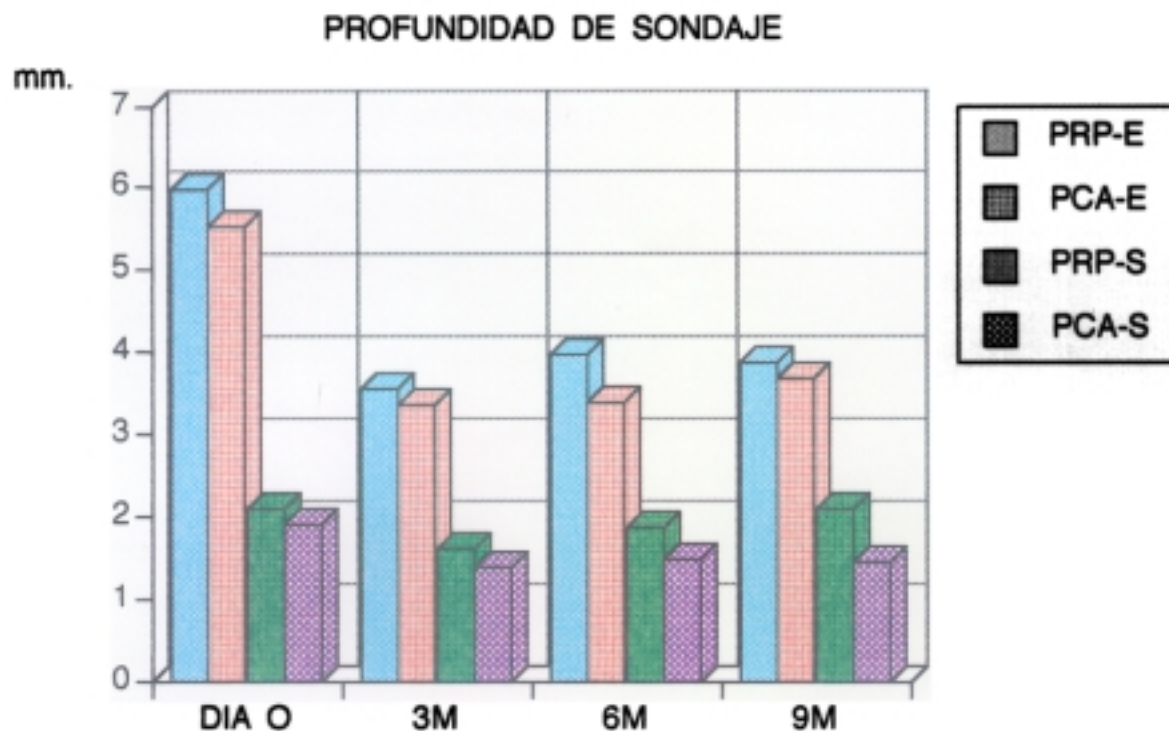
_____ : Estadísticamente significativo, $P \leq 0,05$

PRP-E: Periodontitis rápidamente progresiva localización enferma.

PCA-E: Periodontitis crónica del adulto localización enferma.

PRP-S: Periodontitis rápidamente progresiva localización sana.

PCA-S: Periodontitis crónica del adulto localización sana.



Gráfica 9. Profundidad de sondaje media en las diferentes localizaciones.

4) Nivel de inserción manual.

El nivel de inserción se midió con la sonda manual, tomando como punto fijo la línea amelo-cementaria, en las visitas inicial y el primer mantenimiento (a los 3 meses). En el día 0 el nivel medio de inserción para los diferentes grupos es: PRP-E: $7,05 \pm 0,79$. PCA-E: $7,37 \pm 2,18$. PRP-S: $3,47 \pm 1,39$. PCA-S: $2,85 \pm 1,18$. Estadísticamente se pudo comprobar que en la visita inicial no había diferencias significativas entre PRP-E y PCA-E, ni entre PRP-S y PCA-S, pero sí entre enfermas y sanas de cada grupo. Tras el tratamiento y en la primera visita de mantenimiento, se produjo una ganancia de inserción significativa en las zonas enfermas de ambos grupos, pero no intergrupos. En las zonas sanas apenas hubo modificación en el nivel de inserción. (Tabla 4, gráfica 10).

NIVEL DE INSERCIÓN MANUAL

	PRP-E	PCA-E	PRP-S	PCA-S
DIA 0	7,05 \pm 0,79	7,37 \pm 2,18	3,47 \pm 1,39	2,85 \pm 1,18
3M	5,1 \pm 1,60	5,2 \pm 1,68	3,3 \pm 1,68	2,94 \pm 1,20

Tabla 4. Nivel de inserción medio \pm desviación estándar, en las diferentes localizaciones en el día 0 y 3 meses.

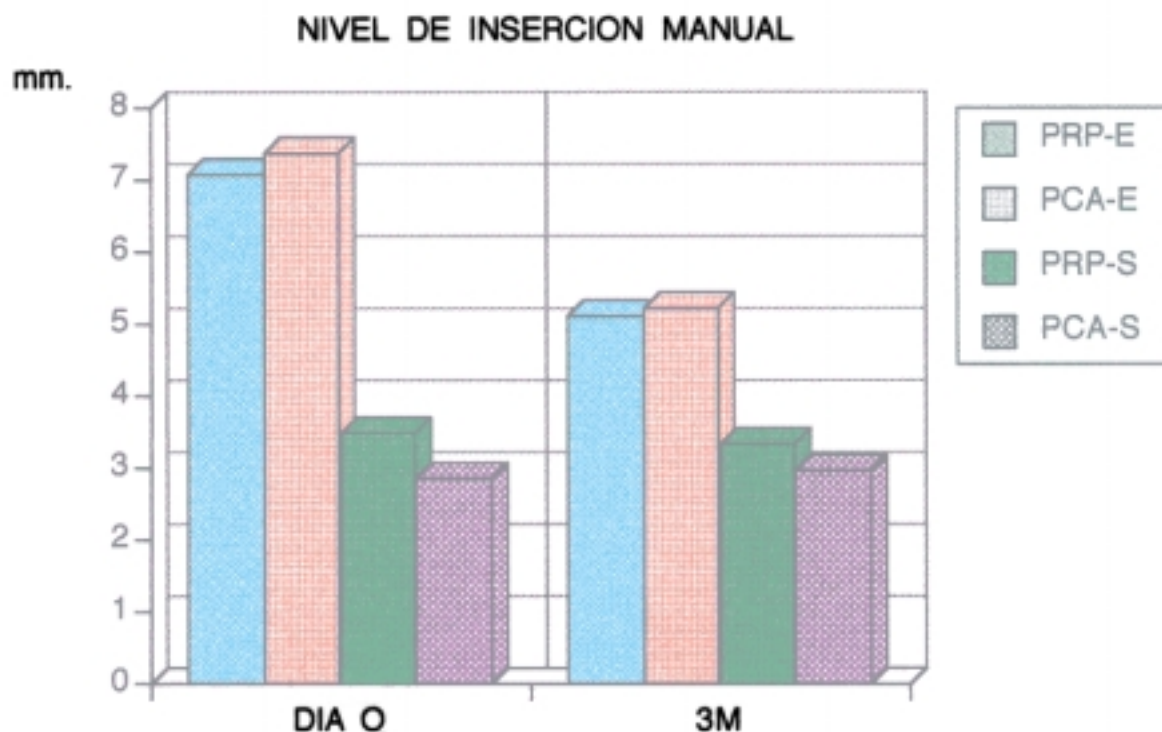
_____: Estadísticamente significativo. $P \leq 0,05$.

PRP-E: Periodontitis rápidamente progresiva localización enferma.

PCA-E: Periodontitis crónica del adulto localización enferma.

PRP-S: Periodontitis rápidamente progresiva localización sana.

PCA-S: Periodontitis crónica del adulto localización sana.



Gráfica 10. Nivel de inserción medio en las diferentes localizaciones en el día 0 y 3 meses.

5) Nivel de inserción relativo.

La medición del nivel de inserción relativo toma como punto fijo otra zona que no sea la línea amelo-cementaria, y en este caso al realizarlo con la sonda Forida® (disc probe) tiene como punto de referencia la cara oclusal de los dientes. Se realizó en el segundo y tercer mantenimiento (a los 6 y 9 meses respectivamente) y se observa que no hay más modificaciones significativas intragrupos, aunque persisten diferencias estadísticamente significativas entre PRP-E y PRP-S. La ganancia de inserción tras el tratamiento, se mantuvo estable a lo largo del estudio y no se encontraron diferencias en el resultado entre el tratamiento de la periodontitis rápidamente progresiva y periodontitis crónica del adulto en términos de ganancia de inserción. (Tabla 5, gráfica 11)

NIVEL DE INSERCIÓN RELATIVO

	PRP-E	PCA-E	PRP-S	PCA-S
6M	12,45 \pm 1,08	11,03 \pm 1,8	10,73 \pm 2,06	10,1 \pm 0,96
9M	12,36 \pm 1,2	11,36 \pm 1,3	10,4 \pm 0,9	10,4 \pm 0,56

Tabla 5. Nivel de inserción relativo medio \pm desviación estándar, en las diferentes localizaciones a los 6 y 9 meses.

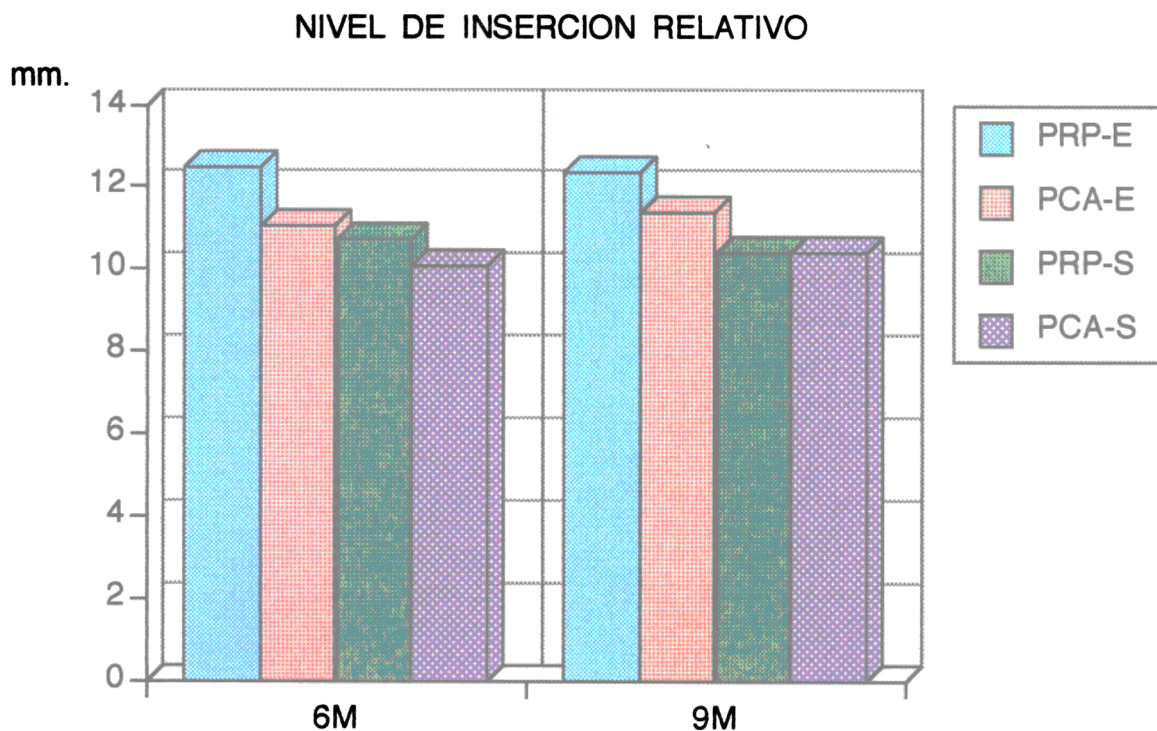
_____: Estadísticamente significativo. $P \leq 0,05$.

PRP-E: Periodontitis rápidamente progresiva localización enferma.

PCA-E: Periodontitis crónica del adulto localización enferma.

PRP-S: Periodontitis rápidamente progresiva localización sana.

PCA-S: Periodontitis crónica del adulto localización sana.



Gráfica 11. Nivel de inserción relativo medio en las diferentes localizaciones a los 6 y 9 meses.

6)

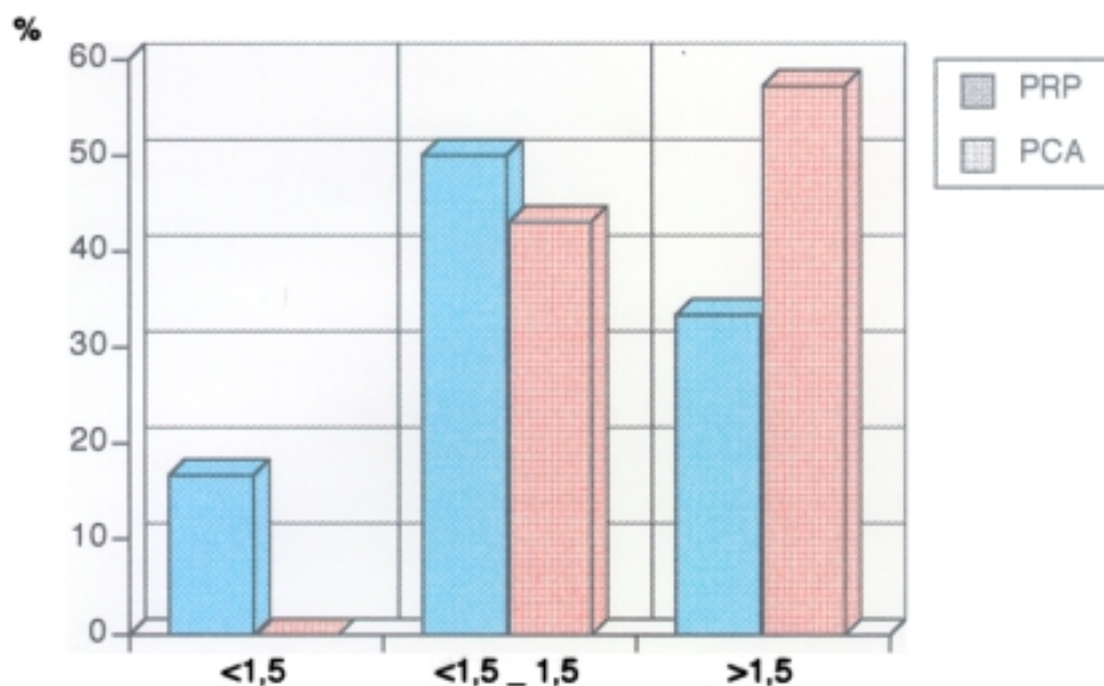
Entre el día 0 y la primera visita de mantenimiento se produjo una pérdida de inserción en el 16,6 % de las localizaciones PRP y en ninguna de PCA. La mayor ganancia se produjo sin embargo en las zonas PCA (57,14 %). (Tabla 6, gráfico 12).

**CAMBIO EN EL NIVEL DE INSERCIÓN
ENTRE EL DÍA 0 Y 3M (%)**

	PRP	PCA
<1,5	16,6	0
<1,5 _ 1,5	50	42,85
>1,5	33,33	57,14

*Tabla 6. < 1,5: Localizaciones con una pérdida de inserción mayor de 1,5 mm.
< 1,5 _ 1,5: Localizaciones que no han perdido ni ganado inserción.
> 1,5: Localizaciones con una ganancia de inserción mayor de 1,5 mm.*

CAMBIO EN EL NIVEL DE INSERCIÓN ENTRE LA VISITA 0 Y 3M



Gráfica 12.

Entre la segunda y tercera visita de mantenimiento, lo más destacable es la ganancia de inserción encontrada en el 20% de las localizaciones PRP. Las restantes no sufrieron modificación. (Tabla 7, gráfica 13).

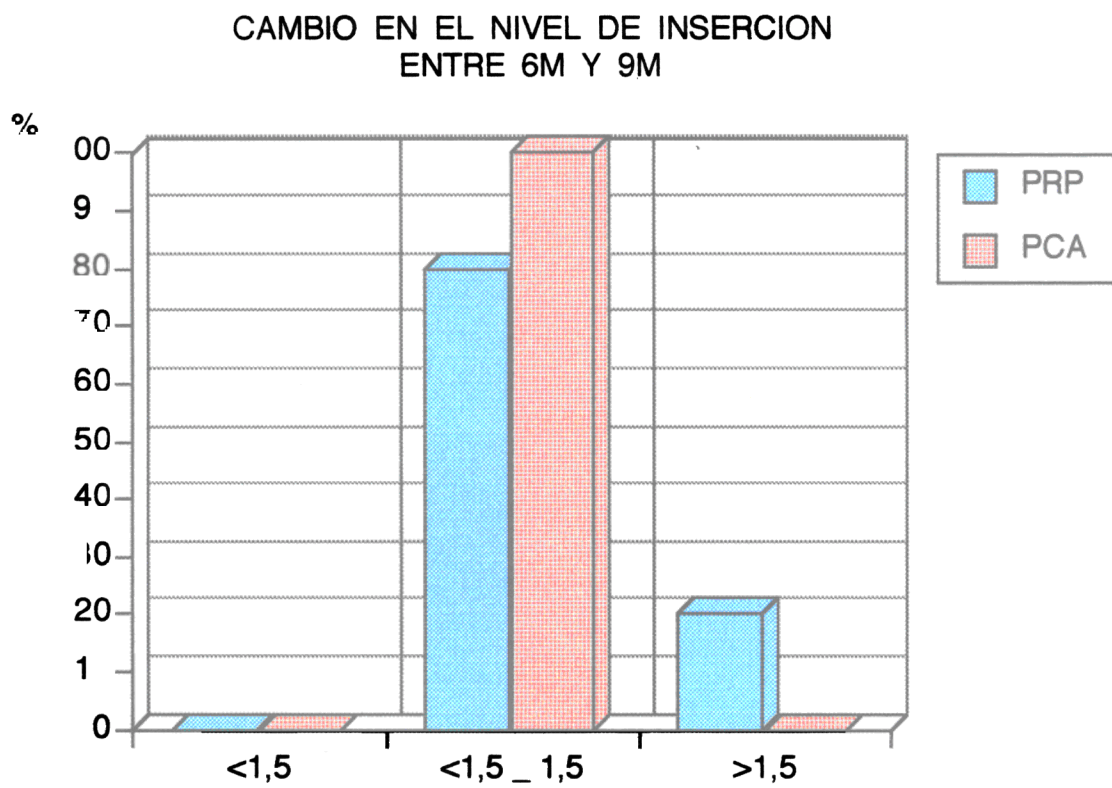
CAMBIO EN EL NIVEL DE INSERCIÓN ENTRE 6M Y 9M (%)

	PRP	PCA
<1,5	0	0
<1,5 _ 1,5	80	100
>1,5	20	0

Tabla 7 < 1,5: Localizaciones con una pérdida de inserción mayor de 1,5 mm.

< 1,5 _ 1,5: Localizaciones que no han perdido ni ganado inserción.

> 1,5: Localizaciones con una ganancia de inserción mayor de 1,5 mm.



Gráfica 13.

4.2. RESULTADOS HISTOLOGICOS.

4.2.1. Técnicas convencionales.

1) Espesor del epitelio oral.

Los resultados de nuestro trabajo indican que el espesor del epitelio oral en las localizaciones sanas es mayor que en las enfermas para ambos grupos, pero estas diferencias no son estadísticamente significativas. Las localizaciones del grupo con periodontitis rápidamente progresiva tienen un espesor de epitelio (tanto en sanas como enfermas) mayor que las del grupo con periodontitis crónica del adulto, pero tampoco son significativas. Sin embargo las diferencias intragrupo a lo largo del estudio sí son significativas para la mayoría de los casos. (Tabla 8, gráfica 14).

ESPESOR DEL EPITELIO ORAL (μ)

	PRP-E	PCA-E	PRP-S	PCA-S
DIA O	146,28 \pm 64,56	138,4 \pm 38,46	185,33 \pm 76,2	135 \pm 47,5
3M	84,92 \pm 18,02	82,28 \pm 24,75	100 \pm 36,94	79 \pm 19,79
6M	208,88 \pm 76,04	158,66 \pm 77,3	273,14 \pm 114,58	202,28 \pm 62,09
9M	118 \pm 22,03	108,8 \pm 21,61	176 \pm 27,7	157 \pm 52,19

Tabla 8. Espesor de epitelio oral medio \pm desviación estándar, en las diferentes localizaciones.

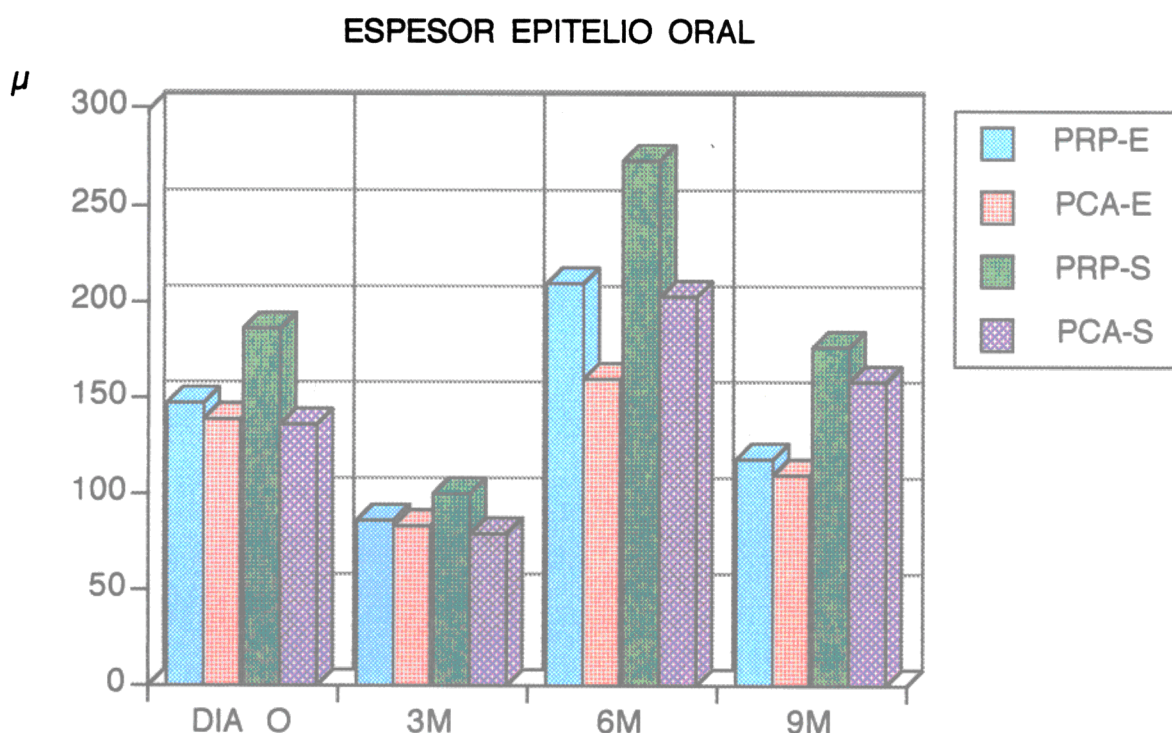
_____: Estadísticamente significativo. $P: \leq 0,05$.

PRP-E: Periodontitis rápidamente progresiva localización enferma.

PCA-E: Periodontitis crónica del adulto localización enferma.

PRP-S: Periodontitis rápidamente progresiva localización sana.

PCA-S: Periodontitis crónica del adulto localización sana.



Gráfica 14. Espesor del epitelio oral en las diferentes localizaciones.

2) Queratinización.

Respecto a la queratinización los datos obtenidos son muy similares a los del espesor del epitelio. Encontramos mayor queratinización en las localizaciones sanas que en las enfermas, y mayor en aquellas con periodontitis rápidamente progresiva, pero sin significación estadística. La evolución a lo largo del estudio sigue también un patrón similar al

en este caso los cambios en ningún momento son estadísticamente significativos. (Tablas 9, 10, 11; gráfica 15).

El grado de queratinización era cuantificado como:

-: No existe.

+/-: Mínimo.

+: Leve.

++: Moderado.

+++: Avanzado.

Para mayor facilidad en la cuantificación hemos transformado estas variables ordinales en semicuantitativas, dándole a cada grado el siguiente valor:

-: 0
 +/-: 1
 +: 2
 ++: 3
 +++: 4

De esta manera tenemos como valor mínimo de la variable queratinización, 0; y como valor máximo, 4.

QUERATINIZACION

	PRP-E DIA O	PRP-S DIA O	PRP-E 3M	PRP-S 3M	PRP-E 6M	PRP-S 6M	PRP-E 9M	PRP-S 9M
-	8	6	7	9	5	0	1	1
+/-	2	2	2	0	1	2	2	0
+	4	4	4	5	3	5	1	3
++	0	0	0	0	0	0	0	0
+++	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 9. Número de localizaciones con diferentes grados de queratinización, en periodontitis rápidamente progresiva.

QUERATINIZACION

	PA-E DIA O	PA-S DIA O	PA-E 3M	PA-S 3M	PA-E 6M	PA-S 6M	PA-E 9M	PA-S 9M
-	7	3	5	6	4	5	3	3
+/-	1	2	2	1	2	1	1	0
+	2	3	0	1	0	1	1	1
++	0	0	0	0	0	0	0	0
+++	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 10. Número de localizaciones con diferentes grados de queratinización, en periodontitis crónica del adulto.

QUERATINIZACION

	PRP-E	PCA-E	PRP-S	PCA-S
DIA O	0,71 \pm 2,16	0,5 \pm 1,26	0,83 \pm 2,3	1 \pm 2,13
3M	0,76 \pm 2,24	0,28 \pm 0,75	0,71 \pm 2,63	0,37 \pm 0,74
6M	0,77 \pm 1,98	0,3 \pm 0,81	1,71 \pm 3,72	0,42 \pm 0,78
9M	0,4 \pm 0,84	0,6 \pm 0,89	0,6 \pm 1,89	0,25 \pm 0,7

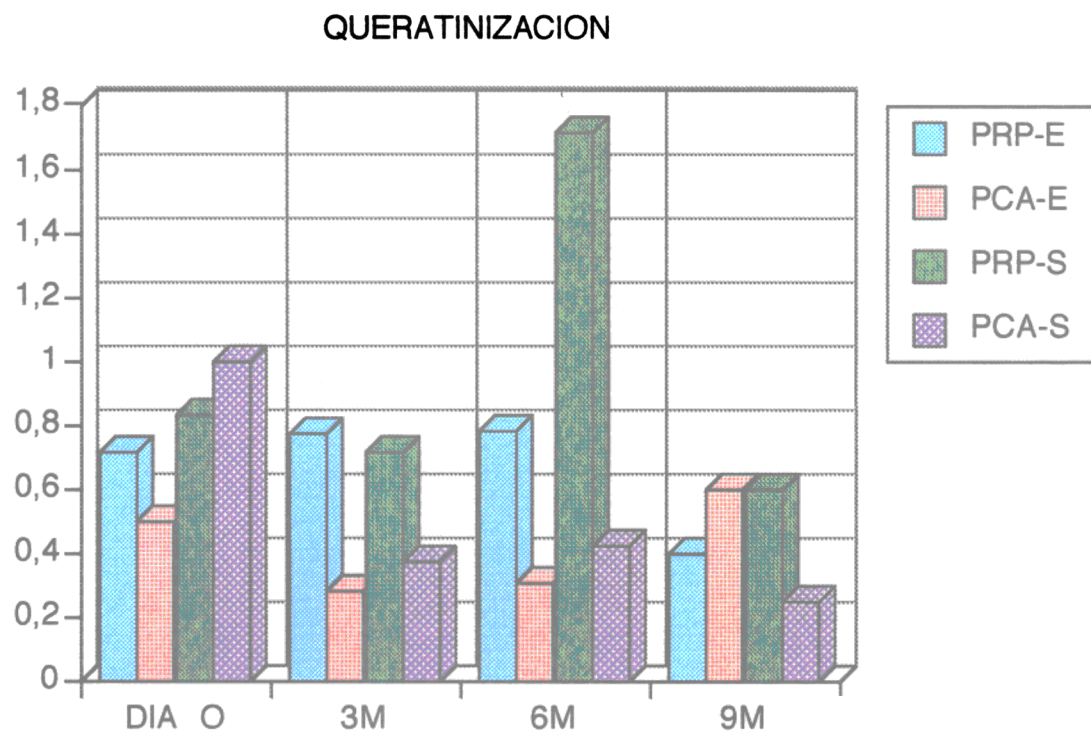
Tabla 11. Queratinización media \pm desviación estándar, en las diferentes localizaciones.

PRP-E: Periodontitis rápidamente progresiva localización enferma.

PCA-E: Periodontitis crónica del adulto localización enferma.

PRP-S: Periodontitis rápidamente progresiva localización sana.

PCA-S: Periodontitis crónica del adulto localización sana.



Gráfica 15. Queratinización en las diferentes localizaciones.

3) Granulosis.

En cuanto a la granulosis encontramos que esta está presente en mayor cantidad y en la mayoría de los casos, en las localizaciones sanas, y en la periodontitis rápidamente progresiva , pero en ningún caso estas diferencias son estadísticamente significativas. Las variaciones intragrupo durante el estudio tampoco fueron significativas. (Tablas 12, 13, 14; gráfica 16). La cuantificación se realiza del mismo modo que la queratinización.

GRANULOSIS

	PRP-E DIA O	PRP-S DIA O	PRP-E 3M	PRP-S 3M	PRP-E 6M	PRP-S 6M	PRP-E 9M	PRP-S 9M
-	6	5	5	9	5	0	2	1
+/-	1	2	4	0	2	3	1	2
+	6	5	4	4	2	4	1	1
++	1	0	0	1	0	0	0	0
+++	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 12. Número de localizaciones con diferentes grados de granulosis, en periodontitis rápidamente progresiva.

GRANULOSIS

	PA-E DIA O	PA-S DIA O	PA-E 3M	PA-S 3M	PA-E 6M	PA-S 6M	PA-E 9M	PA-S 9M
-	7	3	5	6	5	5	4	3
+/-	1	2	2	1	1	1	0	1
+	2	3	0	1	0	1	1	0
++	0	0	0	0	0	0	0	0
+++	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 13. Número de localizaciones con diferentes grados de granulosis, en periodontitis crónica del adulto.

GRANULOSIS

	PRP-E	PCA-E	PRP-S	PCA-S
DIA O	1,14 \pm 3,23	0,5 \pm 1,26	1 \pm 2,89	1 \pm 2,13
3M	0,92 \pm 2,39	0,28 \pm 0,75	0,78 \pm 2,22	0,37 \pm 0,74
6M	0,66 \pm 1,41	0,16 \pm 0,4	1,57 \pm 3,04	0,42 \pm 0,78
9M	0,75 \pm 0,95	0,4 \pm 0,89	1,5 \pm 1,91	0,25 \pm 0,5

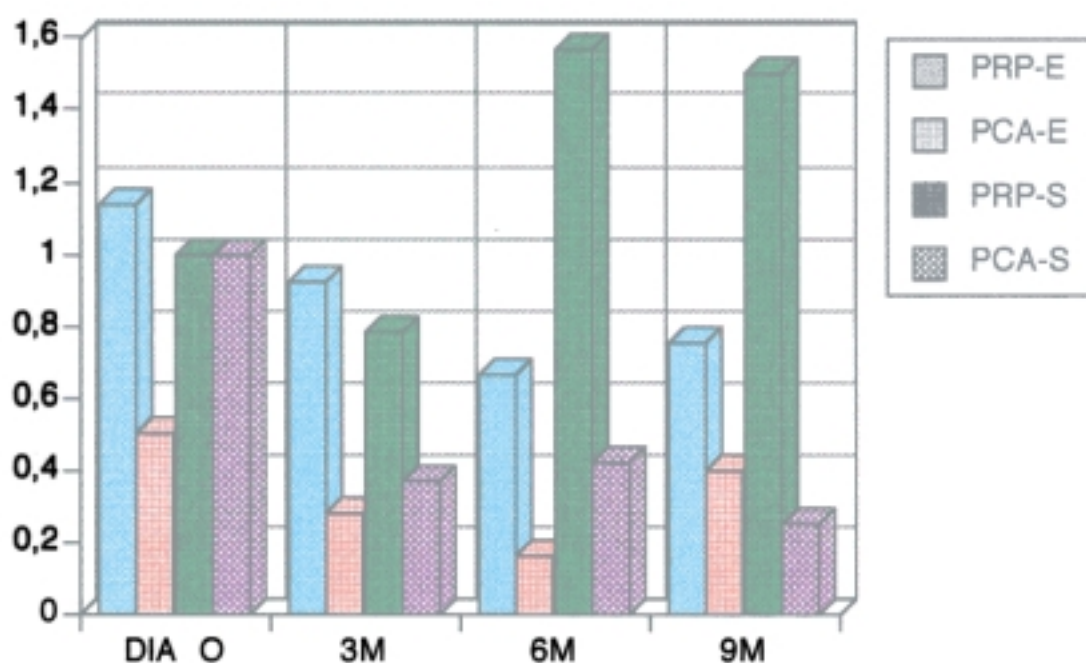
Tabla 14. Granulosis media \pm desviación estándar, en las diferentes localizaciones.

PRP-E: Periodontitis rápidamente progresiva localización enferma.

PCA-E: Periodontitis crónica del adulto localización enferma.

PCA-S: Periodontitis crónica del adulto localización sana.

GRANULOSIS



Gráfica 16. Granulosis en las diferentes localizaciones.

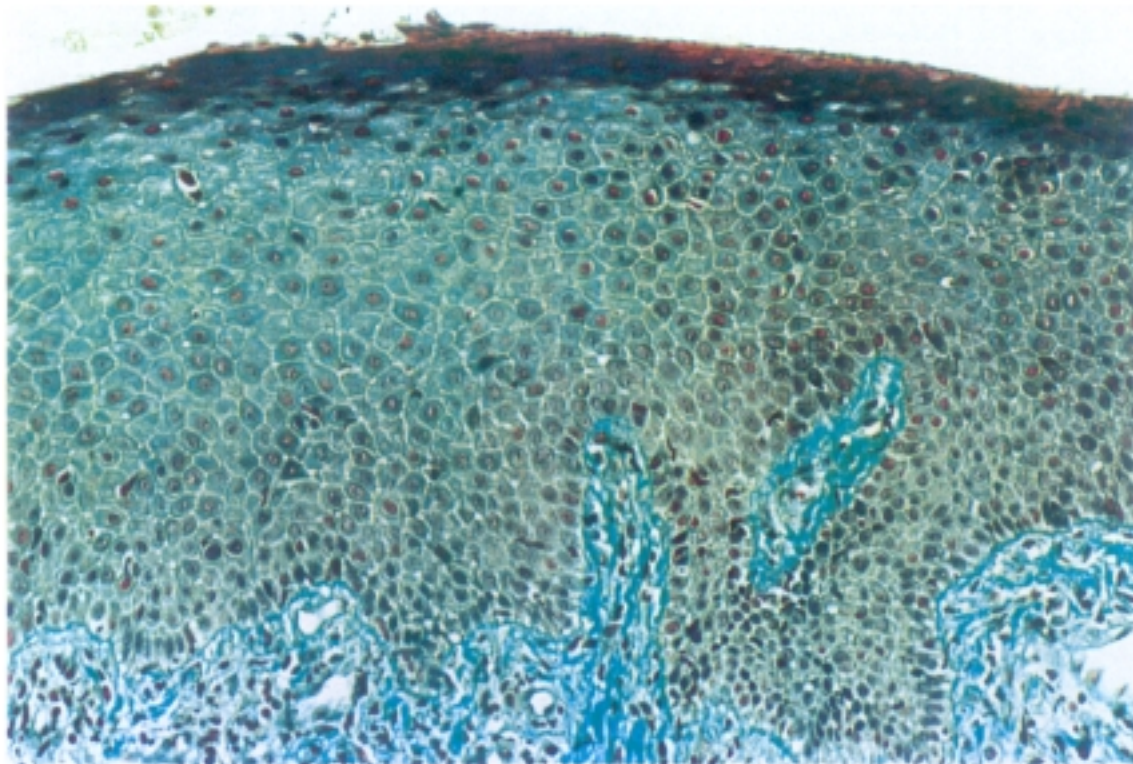


Foto 1. Periodontitis crónica del adulto en segunda visita de mantenimiento (6 M), observándose a este nivel un espesor medio de 23 estratos, para-queratosis y mínimo infiltrado inflamatorio subepitelial.

(Tr. de Masson x 200)

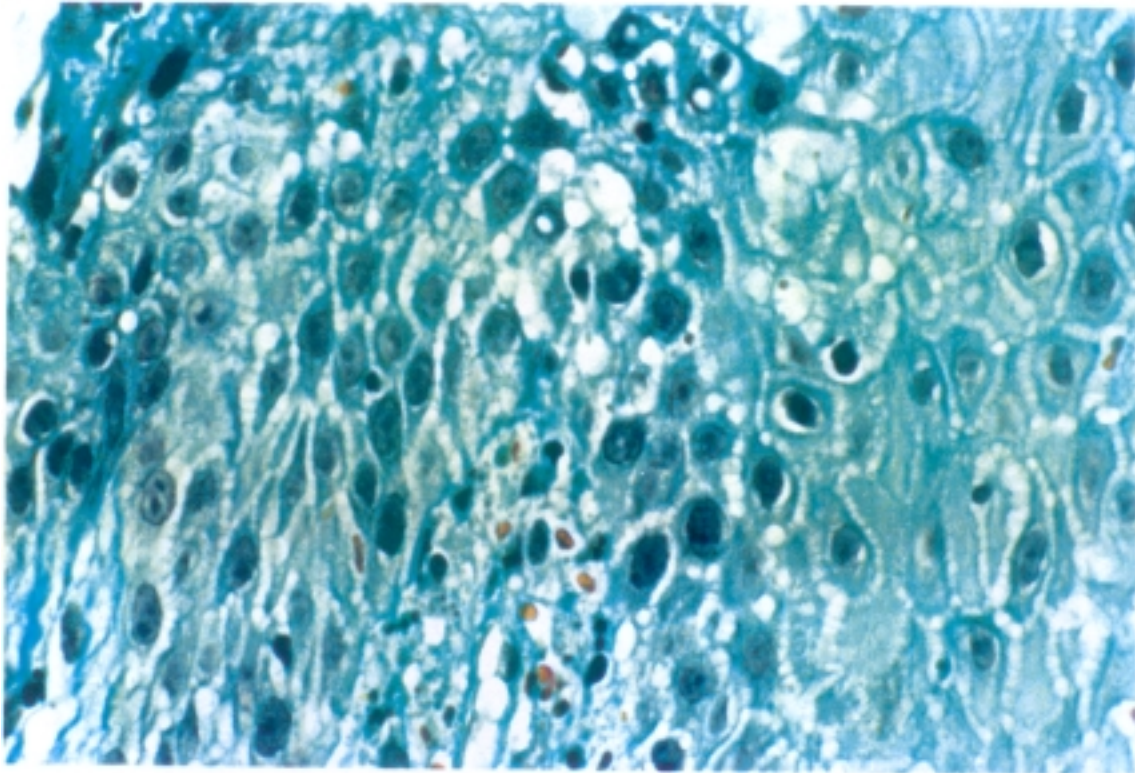


Foto 2. Periodontitis rápidamente progresiva pretratamiento. Prominente vacuolización citoplasmática y nuclear del epitelio de la bolsa. Obsérvese la degeneración del colágeno a nivel de la papila coriónica, observable en el centro de la imagen..

(Tr de Masson x 430)

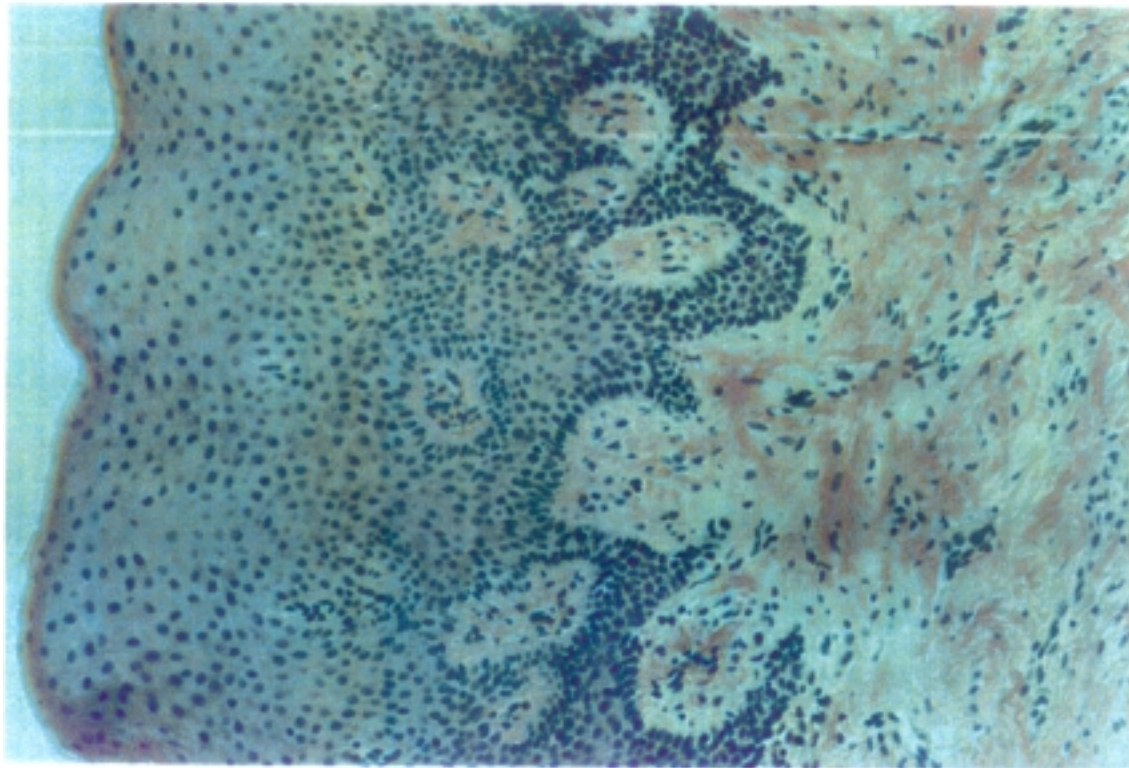


Foto 3. Periodontitis rápidamente progresiva en fase de mantenimiento (3 M), donde se observa un engrosamiento del epitelio oral con paraqueratosis y extinción del proceso inflamatorio en el corion, en el cual hay colágeno cicatrizal residual.

H. E. x 100)

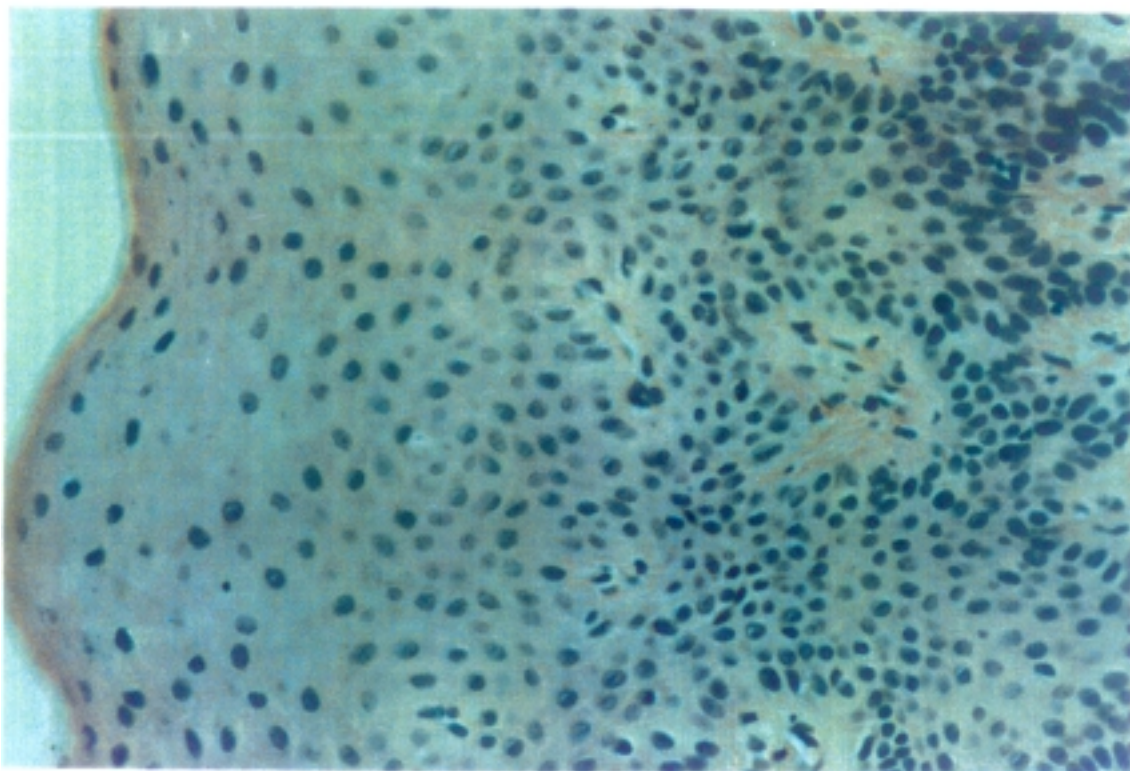


Foto 4. Mismo caso anterior a mayor aumento para observar la existencia de algunas mitosis en las células epiteliales.

(H. E. x 200)

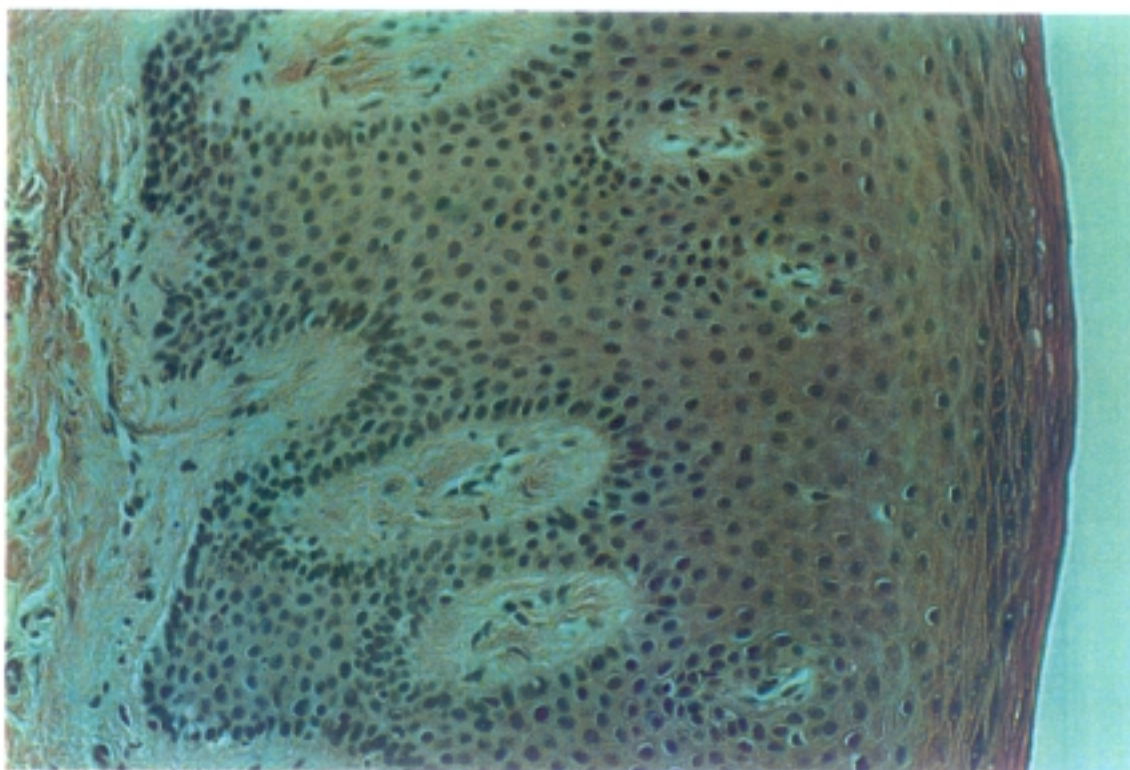


Foto 5. Periodontitis rápidamente progresiva pretratamiento. Epitelio pavimentoso oral con granulosis y queratinización. Observe la ausencia de estrato lúcido.

(H. E. x 200)

4) Infiltrado inflamatorio.

En el infiltrado inflamatorio y en el día 0, observamos que tanto en la periodontitis rápidamente progresiva, como en la periodontitis crónica del adulto, era más intenso en las localizaciones enfermas que en las sanas, aunque esta diferencia no era significativa. Y ligeramente mayor infiltrado en PCA que PRP. Con el tratamiento descenden los niveles de infiltrado, para producirse una ligera recidiva en el segundo mantenimiento pero por debajo de los resultados iniciales. En el tercer mantenimiento vuelve a producirse un descenso, salvo en las localizaciones enfermas de la periodontitis rápidamente progresiva, que mantiene el mismo nivel de infiltrado que en el segundo mantenimiento e incluso ligeramente superior. En ningún caso hubo diferencias estadísticamente significativas intragrupo, ni intergrupos. (Tablas 15, 16, 17; gráfica 17). La cuantificación se realiza del mismo modo que la queratinización.

INFILTRADO INFLAMATORIO

	PRP-E DIA 0	PRP-S DIA 0	PRP-E 3M	PRP-S 3M	PRP-E 6M	PRP-S 6M	PRP-E 9M	PRP-S 9M
-	2	5	5	10	1	5	1	3
+/-	1	3	3	3	4	1	1	1
+	7	6	4	1	2	1	1	1
++	1	0	2	0	1	1	2	0
+++	3	0	0	0	1	1	0	0

Tabla 15. Número de localizaciones con diferentes grados de infiltrado inflamatorio, en periodontitis rápidamente progresiva.

INFILTRADO INFLAMATORIO

	PA-E DIA 0	PA-S DIA 0	PA-E 3M	PA-S 3M	PA-E 6M	PA-S 6M	PA-E 9M	PA-S 9M
-	0	0	1	5	2	1	2	3
+/-	1	2	2	1	1	2	1	1
+	6	6	3	1	0	3	1	1
++	1	0	1	1	3	0	1	0
+++	2	0	0	0	0	1	0	0

Tabla 16. Número de localizaciones con diferentes grados de infiltrado inflamatorio, en periodontitis crónica del adulto.

INFILTRADO INFLAMATORIO

	DIA 0	3M	6M	9M
PRP-E	2,14 \pm 4,6	1,21 \pm 2,6	1,66 \pm 2	1,8 \pm 2,48
PCA-E	2,4 \pm 4,22	1,57 \pm 2,29	1,66 \pm 3,61	1,2 \pm 1,3
PRP-S	1,07 \pm 3,24	0,35 \pm 0,92	1,1 \pm 1,53	0,6 \pm 0,89
PCA-S	1,75 \pm 4,2	0,75 \pm 1,16	1,7 \pm 2,42	0,6 \pm 0,89

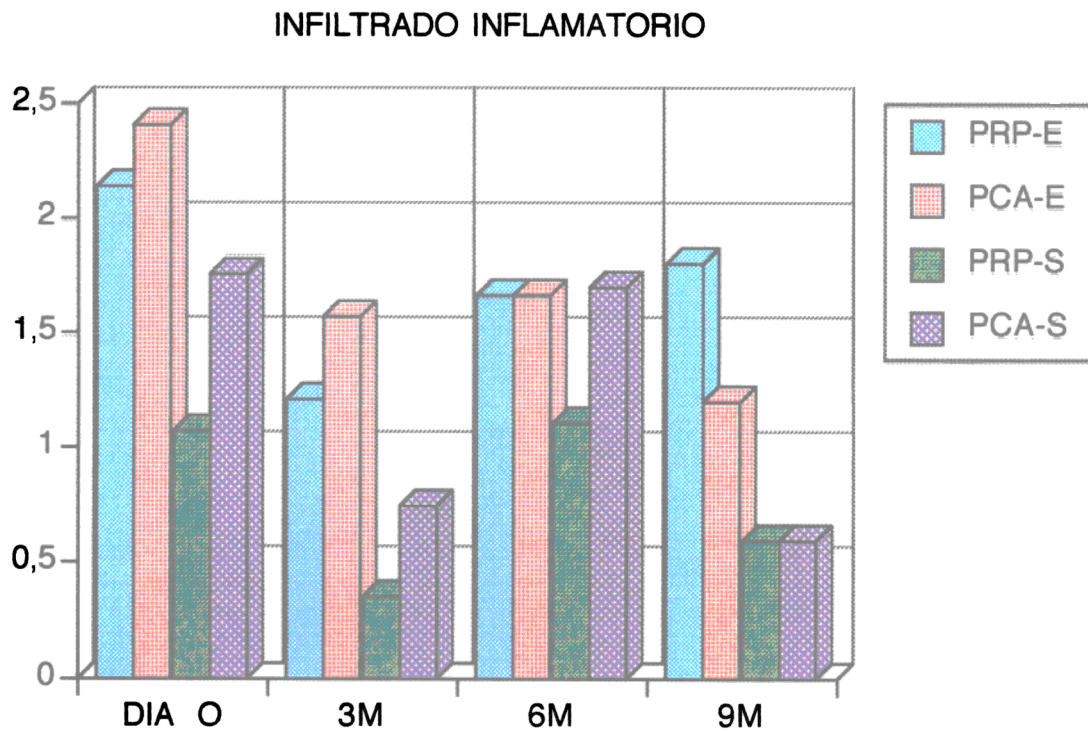
Tabla 17. Infiltrado inflamatorio medio \pm desviación estándar, en las diferentes localizaciones.

PRP-E: Periodontitis rápidamente progresiva localización enferma.

PCA-E: Periodontitis crónica del adulto localización enferma.

PRP-S: Periodontitis rápidamente progresiva localización sana.

PCA-S: Periodontitis crónica del adulto localización sana.



Gráfica 17. Infiltrado inflamatorio en las diferentes localizaciones.

5) Degeneración del colágeno.

El patrón de la degeneración del colágeno es muy similar al del infiltrado inflamatorio, ya que estas son dos características histopatológicas que deben llevar un curso paralelo. Igualmente existe en el día 0 mayor degeneración colágena en las localizaciones enfermas que en las sanas. Después del tratamiento se produce una mejoría importante aunque no es estadísticamente significativa. En el segundo mantenimiento (6M) se observa una recidiva, que vuelve a desaparecer en el tercer mantenimiento. En ninguna de las visitas se pudo constatar diferencias estadísticamente significativas intragrupo, ni intergrupos salvo en la PRP-E, entre la visita inicial y a los 9 meses. La cuantificación se realiza del mismo modo que la queratinización. (Tablas 18, 19, 20; gráfica 18).

DEGENERACION DEL COLAGENO

	PRP-E DIA 0	PRP-S DIA 0	PRP-E 3M	PRP-S 3M	PRP-E 6M	PRP-S 6M	PRP-E 9M	PRP-S 9M
-	5	7	5	11	2	5	4	5
+/-	3	1	4	3	3	1	1	0
+	2	5	5	0	4	2	0	0
++	2	1	0	0	0	1	0	0
+++	2	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 18. Número de localizaciones con diferentes grados de degeneración del colágeno, en periodontitis ápidamente progresiva.

DEGENERACION DEL COLAGENO

	PA-E DIA 0	PA-S DIA 0	PA-E 3M	PA-S 3M	PA-E 6M	PA-S 6M	PA-E 9M	PA-S 9M
-	4	4	4	6	1	3	2	3
+/-	0	0	2	0	2	0	3	2
+	5	4	1	2	3	3	0	0
++	1	0	0	0	0	1	0	0
+++	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 19. Número de localizaciones con diferentes grados de degeneración del colágeno en periodontitis crónica del adulto.

DEGENERACION DEL COLAGENO

	PRP-E	PCA-E	PRP-S	PCA-S
DIA O	1,5 \pm 2,6	1,3 \pm 3,19	1 \pm 2,71	1 \pm 2,82
3M	1 \pm 2,8	0,57 \pm 0,97	0,21 \pm 0,8	0,5 \pm 1,41
6M	1,22 \pm 2,72	1,33 \pm 2,42	0,88 \pm 1,53	1,28 \pm 2,36
9M	0,2 \pm 0,44	0,6 \pm 1,34	0	0,8 \pm 1,78

Tabla 20. Degeneración del colágeno medio \pm desviación estándar, en las diferentes localizaciones.

_____: Estadísticamente significativo. $P: \leq 0,05$.

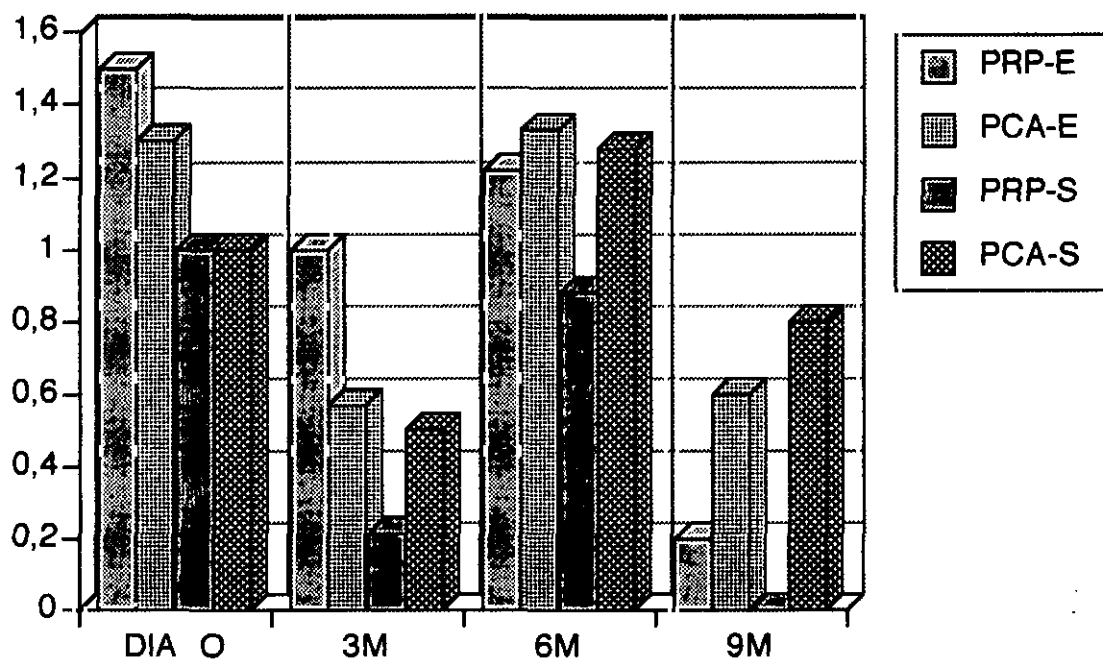
PRP-E: Periodontitis rápidamente progresiva localización enferma.

PCA-E: Periodontitis crónica del adulto localización enferma.

PRP-S: Periodontitis rápidamente progresiva localización sana.

PCA-S: Periodontitis crónica del adulto localización sana.

DEGENERACION DEL COLAGENO



Gráfica 18. Degeneración del colágeno en las diferentes localizaciones.

6) Neoangiogénesis.

En el proceso inflamatorio la neoangiogénesis siempre va por detrás del infiltrado inflamatorio y de la degeneración del colágeno. En nuestro trabajo vemos que aunque con ligeras modificaciones en el grado, la neoangiogénesis se mantiene bastante estable a lo largo del estudio, sufriendo la más importante modificación entre el sexto y noveno mes, aumentando de forma importante, y coincidiendo con la disminución de la degeneración del colágeno y del infiltrado inflamatorio. En ningún caso hubo diferencias estadísticamente significativas. La cuantificación se realiza del mismo modo que la queratinización. (Tablas 21, 22, 23; gráfica 19).

NEOANGIOGENESIS

	PRP-E DIA 0	PRP-S DIA 0	PRP-E 3M	PRP-S 3M	PRP-E 6M	PRP-S 6M	PRP-E 9M	PRP-S 9M
-	7	8	8	11	4	7	0	4
+/-	0	0	1	3	0	1	1	1
+	6	5	5	0	5	1	4	0
++	1	1	0	0	0	0	0	0
+++	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 21. Número de localizaciones con diferentes grados de neoangiogénesis, en periodontitis rápidamente progresiva.

NEOANGIOGENESIS

	PA-E DIA 0	PA-S DIA 0	PA-E 3M	PA-S 3M	PA-E 6M	PA-S 6M	PA-E 9M	PA-S 9M
-	2	4	3	5	3	4	1	4
+/-	2	1	0	0	1	0	1	0
+	5	3	3	2	2	2	2	1
++	1	0	1	1	0	1	1	0
+++	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 22. Número de localizaciones con diferentes grados de neoangiogénesis, en periodontitis crónica del adulto.

NEOANGIOGENESIS

	DIA 0	3M	6M	9M
PRP-E	1,07 \pm 3,24	0,78 \pm 2,66	1,11 \pm 3,33	1,8 \pm 3,49
PCA-E	1,5 \pm 3,17	1,28 \pm 2,36	0,83 \pm 1,6	1,6 \pm 1,81
PRP-S	0,92 \pm 2,73	0,21 \pm 0,8	0,33 \pm 0,7	0,2 \pm 0,44
PCA-S	0,87 \pm 2,1	0,87 \pm 1,64	1 \pm 1,73	0,4 \pm 0,89

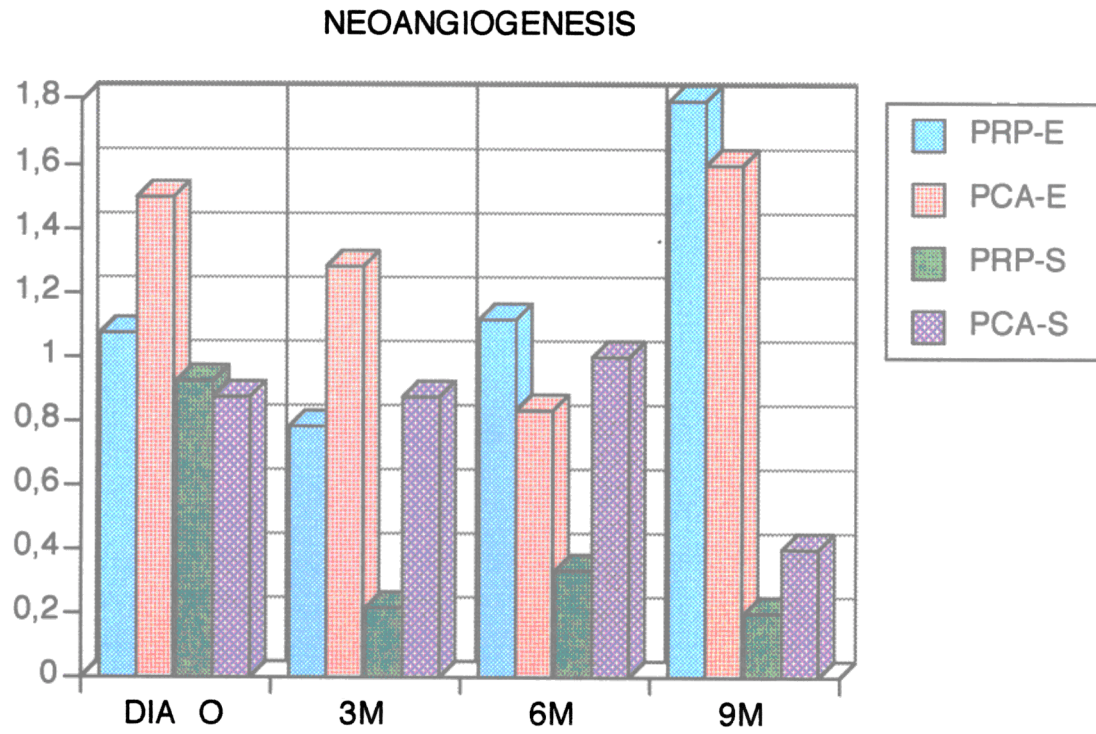
Tabla 23. Neoangiogénesis media \pm desviación estándar, en las diferentes localizaciones.

PRP-E: Periodontitis rápidamente progresiva localización enferma.

PCA-E: Periodontitis crónica del adulto localización enferma.

PRP-S: Periodontitis rápidamente progresiva localización sana.

PCA-S: Periodontitis crónica del adulto localización sana.



Gráfica 19. Neoangiogenesis en las diferentes localizaciones.

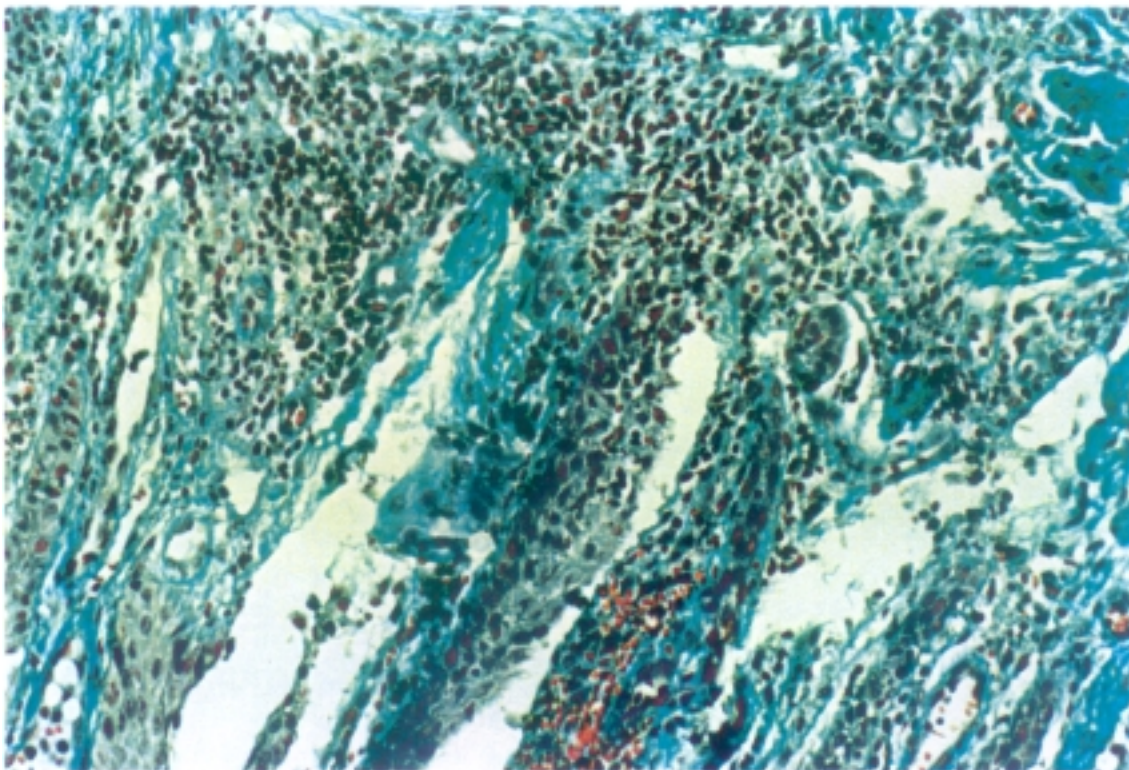


Foto 6. Periodontitis crónica del adulto en fase de mantenimiento (6 M). Infiltrado inflamatorio bajo el epitelio de la bolsa y pequeña infiltración hemorrágica del acto quirúrgico.

(Tr. de Masson x 200)

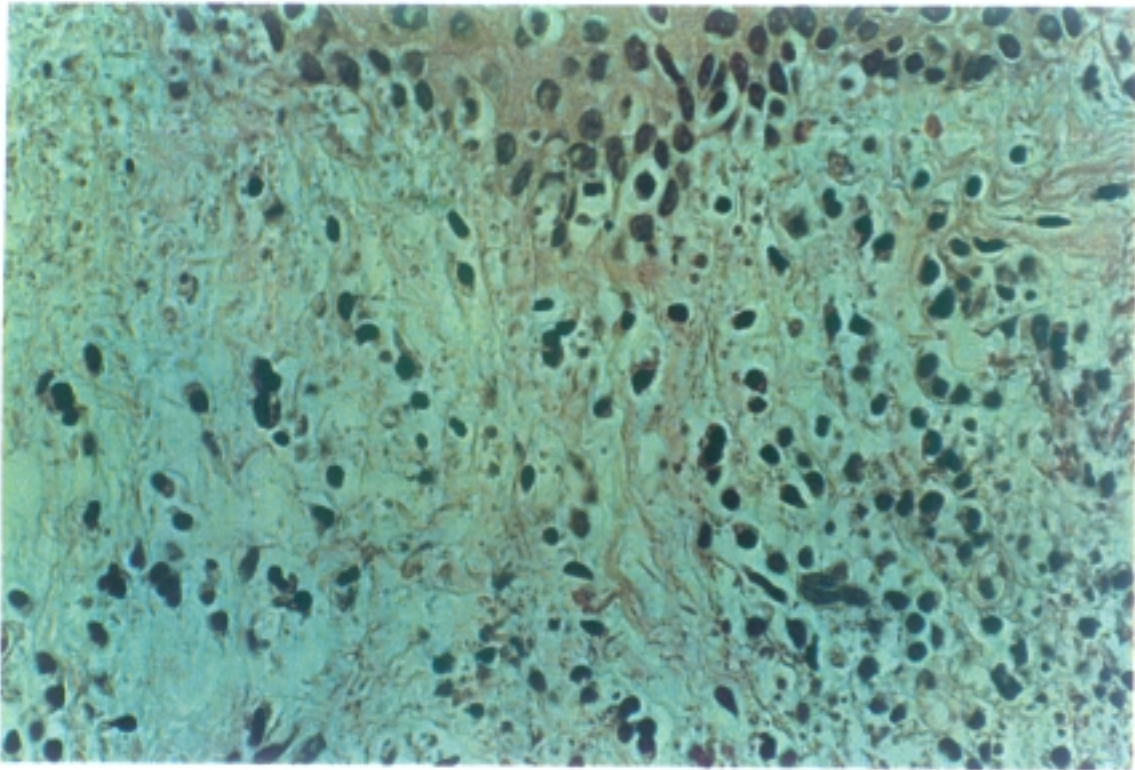


Foto 7. Periodontitis crónica del adulto en fase de pretratamiento. Infiltrado inflamatorio con predominio de células plasmáticas y degeneración de colágeno intensa.

(H. E. x 400)

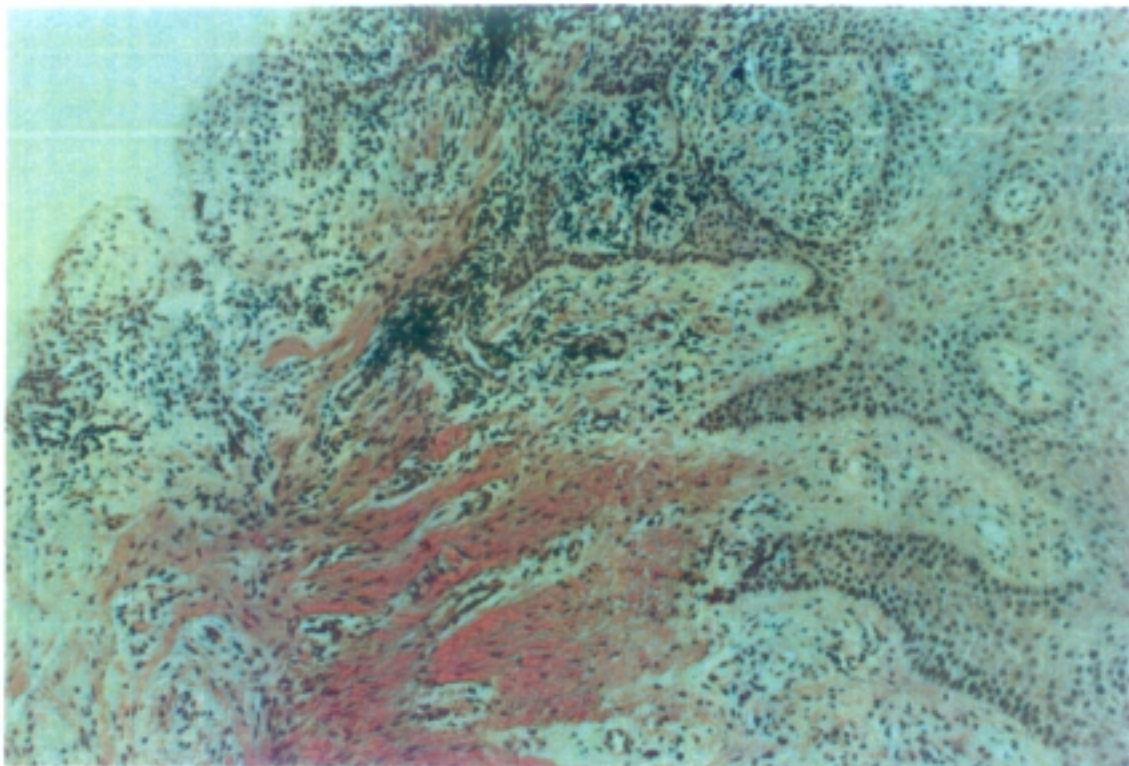


Foto 8. Periodontitis crónica del adulto en fase de mantenimiento, en la que se mantiene el infiltrado inflamatorio crónico bajo el epitelio de la bolsa y se desarrolla en el corion profundo una fibrosis cicatrizal. La estructura histológica del corion papilar oral es normal.

(H. E. x 100)

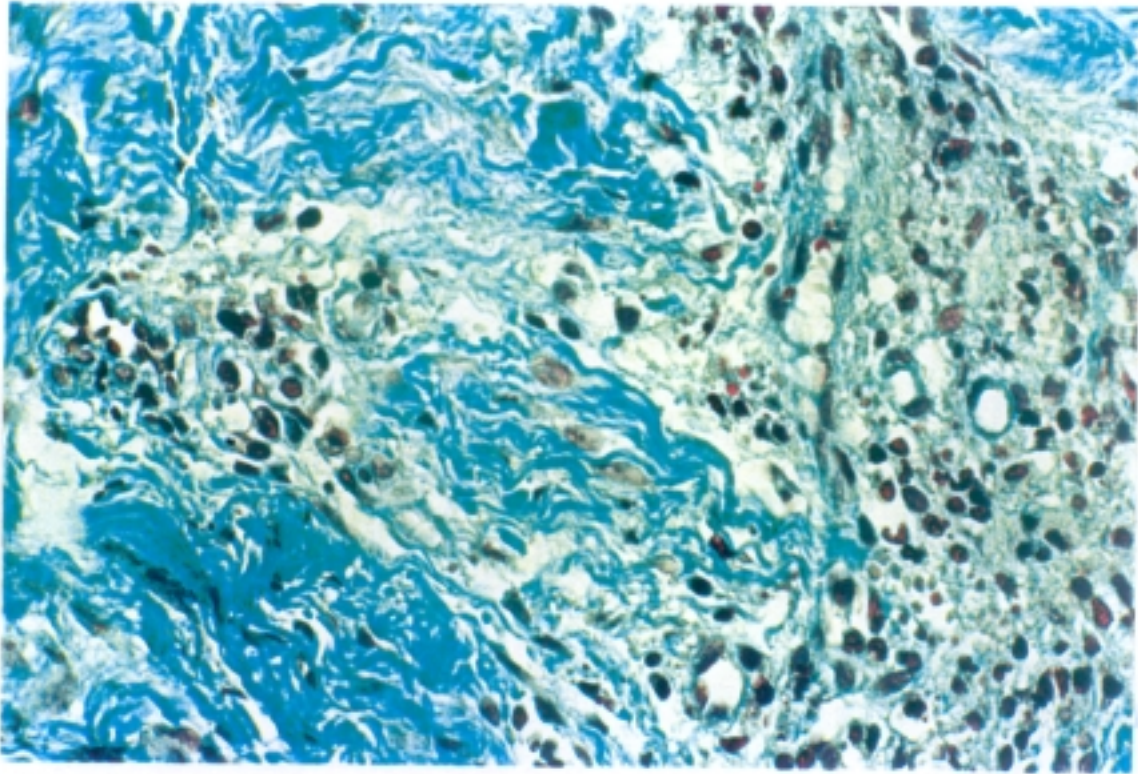


Foto 9. Periodontitis crónica del adulto en fase de mantenimiento (6 M). Infiltrado inflamatorio en el corion con degeneración de fascículos colágenos.

(Tr. de Masson x 400)

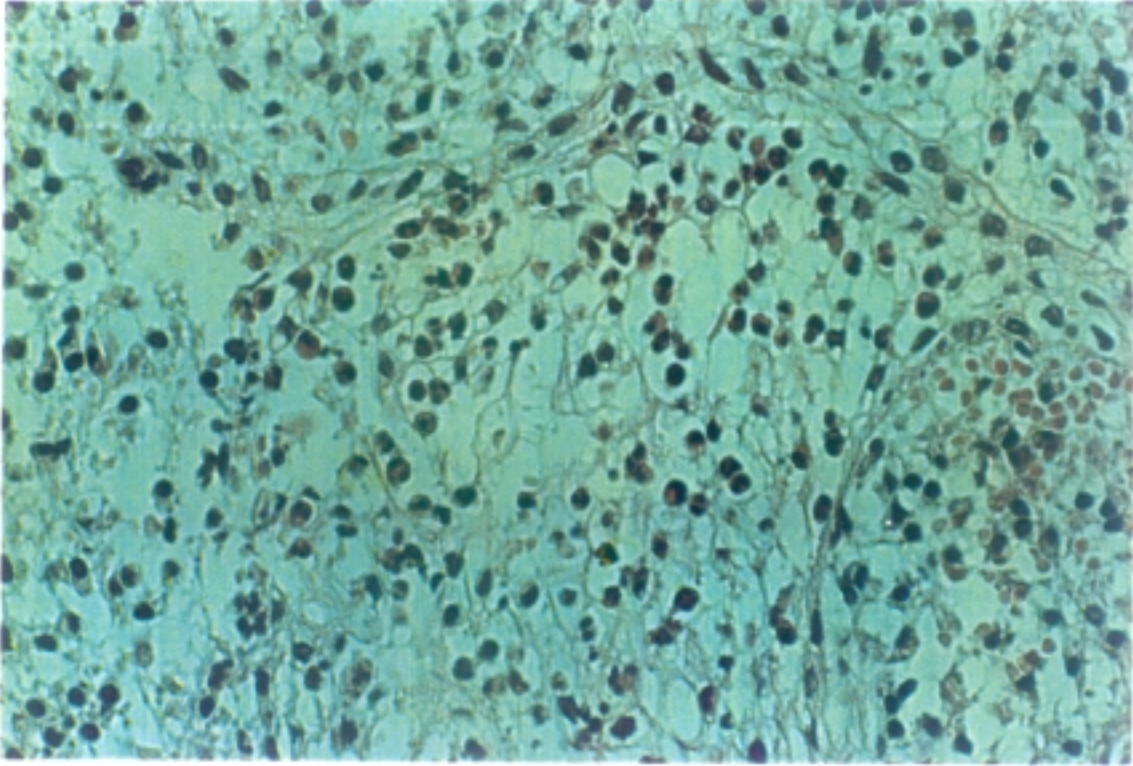


Foto 10. Periodontitis rápidamente progresiva pretratamiento. Infiltración inflamatoria con abundantes eosinófilos e intenso edema.

(H. E. x 400)

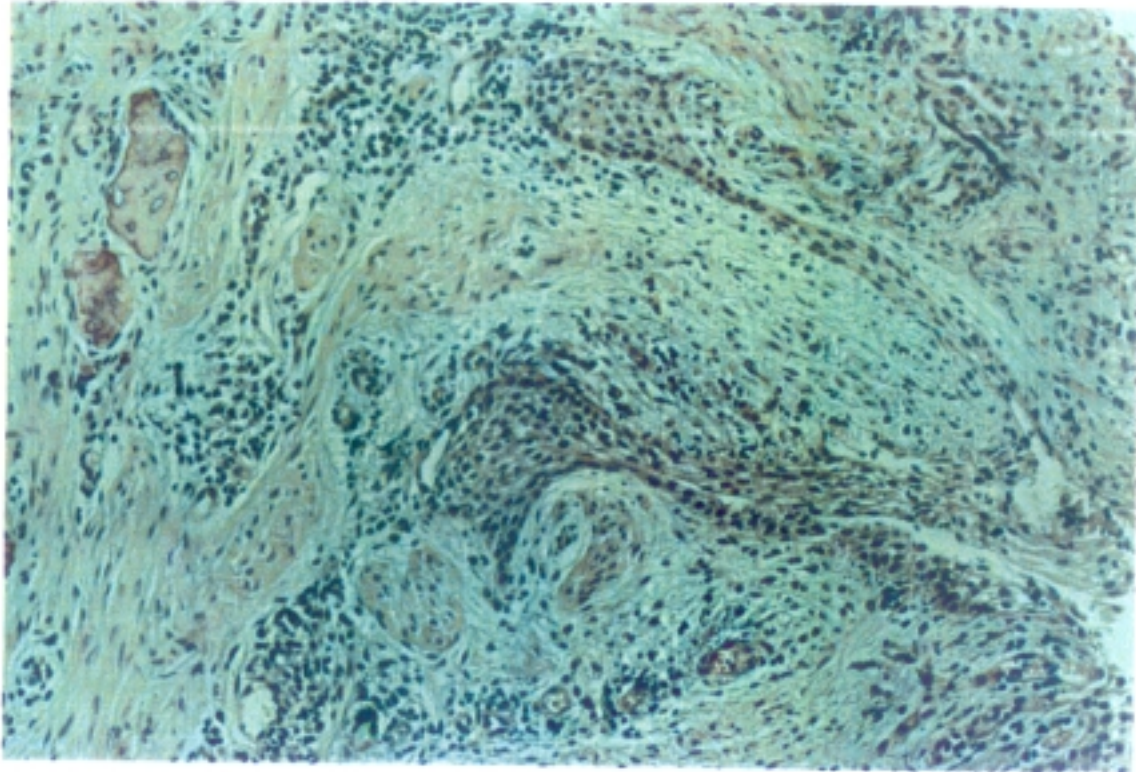


Foto 11. Periodontitis crónica del adulto en fase de mantenimiento (6 M) donde observas una recidiva con elongación de las crestas epiteliales. Presencia de trabéculas oseas con ribetes osteoblásticos, e infiltrado inflamatorio crónico con predominio de células plasmáticas.

(H. E. x 130)

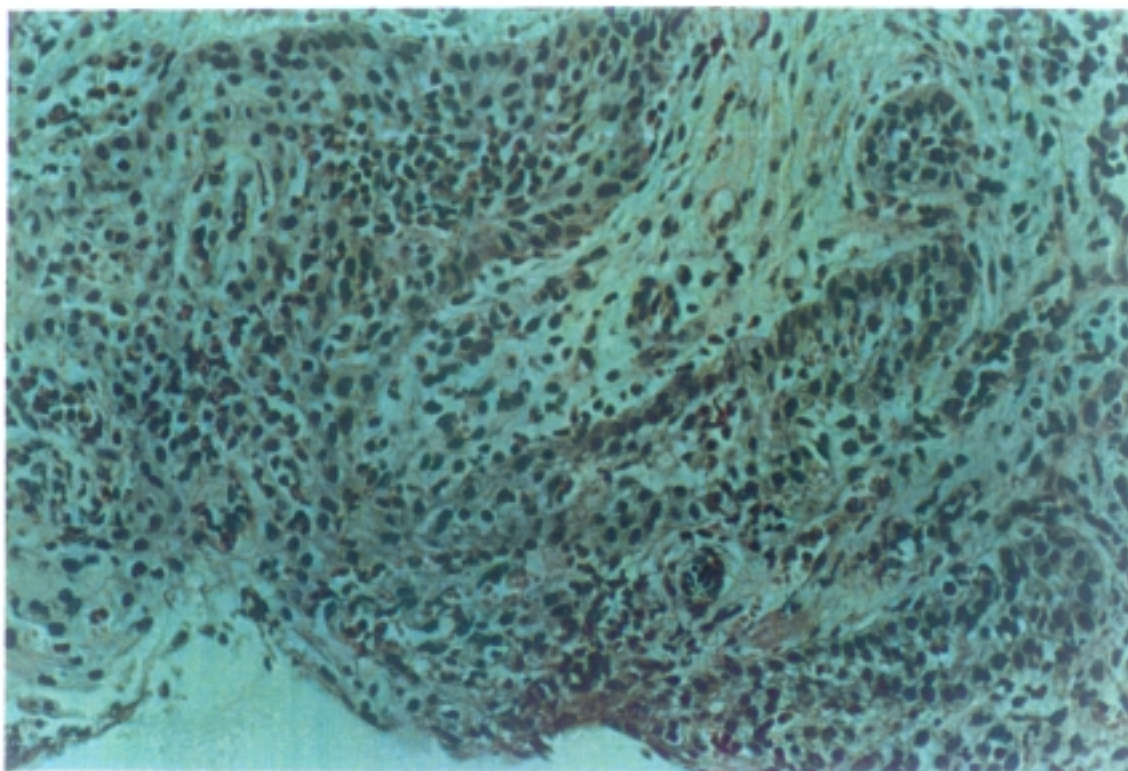


Foto 12. Periodontitis crónica del adulto en fase de mantenimiento (6 M) donde observamos una recidiva con predominio de infiltrado inflamatorio de caracter agudo. Abundantes eosinófilos formando microabscesos en epitelio de bolsa.

(H. E. x 200)

4.2.2. INMUNOHISTOQUIMICA.

Para la cuantificación de las distintas células, separamos los dos epitelios (oral y de la bolsa) del conectivo, y este a su vez lo dividíamos en tres partes (conectivo superficial, conectivo profundo y conectivo subyacente a epitelio de la bolsa). En cada zona mediante la utilización de diferentes anticuerpos, valoramos: Linfocitos T, T4, T8, B, Células Natural Killer, Células de Langerhans, Linfocitos activados y macrófagos.

1) Linfocitos T.

A) Anticuerpo T11. (Pan T)

Los resultados de nuestro trabajo indican que el número de células marcadas con T11 en el día 0, es mayor en las localizaciones con periodontitis rápidamente progresiva (PRP), aunque esta diferencia no es significativa. Tras el tratamiento, y en la primera cita de mantenimiento se produce una caída en el número de células T en ambos grupos, siendo esta disminución estadísticamente significativa para la periodontitis crónica del adulto (PCA). Este descenso continúa para la PRP en el sexto mes del estudio, siendo este cambio significativo en relación al día 0. Sin embargo, y en la PCA en esta misma visita, se produce un ligero aumento en el número de células, aunque no tiene significación respecto a las dos citas anteriores. (Tabla 24, gráfica 20).

T11

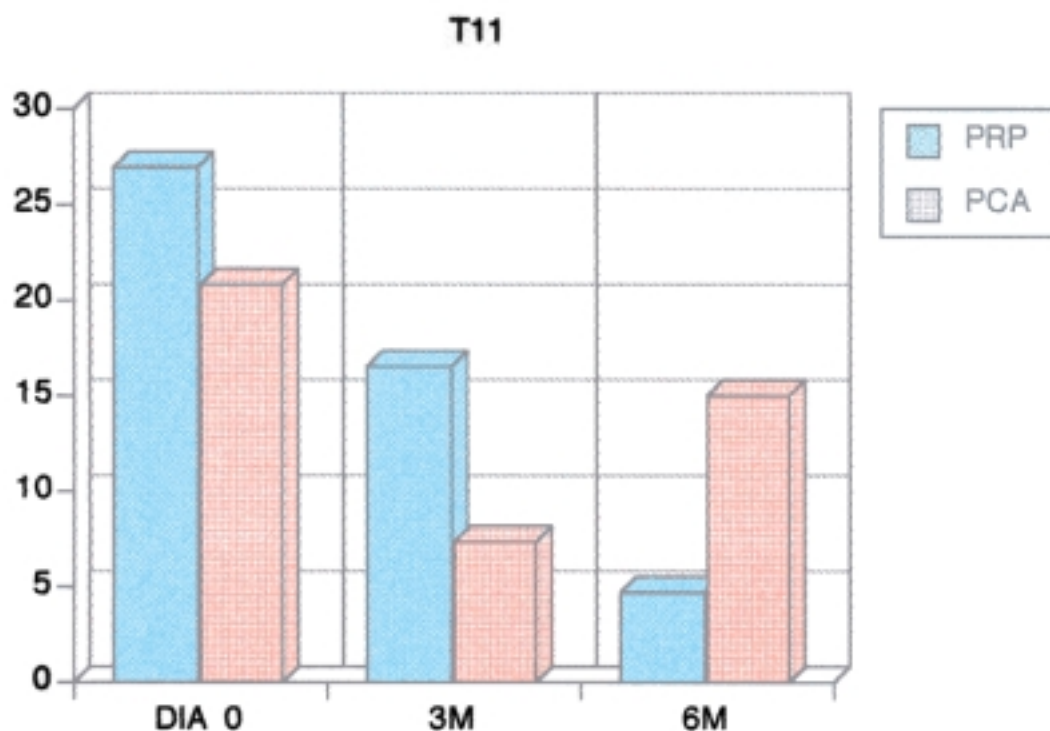
	DIA 0	3M	6M
PRP	26,85 ±7,54	16,5 ±6,1	4,65 ±2,07
PCA	20,7 ±4,3	7,31 ±3,04	15

Tabla 24. Media de las medias de las distintas localizaciones (epitelio oral, epitelio de las bolsa, conectivo superficial, conectivo profundo y conectivo adyacente el epitelio de la bolsa) ± error estándar, en el día 0, a los 3 meses y 6 meses.

____ : Estadísticamente significativo. $P: \leq 0,05$

PRP: Periodontitis rápidamente progresiva.

PCA: Periodontitis crónica del adulto.



Gráfica 20. Media del número de células T, en PRP y PCA, en el día 0, a los 3 meses y 6 meses.

Si desglosamos la distribución de las células T en las 5 localizaciones estudiadas: Epitelio oral, epitelio de la bolsa, conectivo superficial, conectivo profundo y conectivo adyacente al epitelio de la bolsa, vemos que en ambos tipos de periodontitis encontramos una mayor cantidad de células T en el conectivo profundo y de la bolsa, que en el superficial. Respecto a los epitelios observamos una gran diferencia a favor del epitelio de la bolsa. Con el tratamiento y a lo largo del estudio la tendencia en ambos grupos es a la disminución del número de células, con una importante caída en el epitelio de la bolsa, y persistencia de un ligero infiltrado que para la PRP se distribuye sobre todo entre el conectivo profundo y de la bolsa; y en la PCA más a nivel superficial, aumentando al final del estudio de forma importante. (Tablas 25, 26; gráficas 21, 22)

T11

Tabla 25. Media \pm desviación estándar del número de células T en las distintas localizaciones de la periodontitis rápidamente progresiva (PRP).

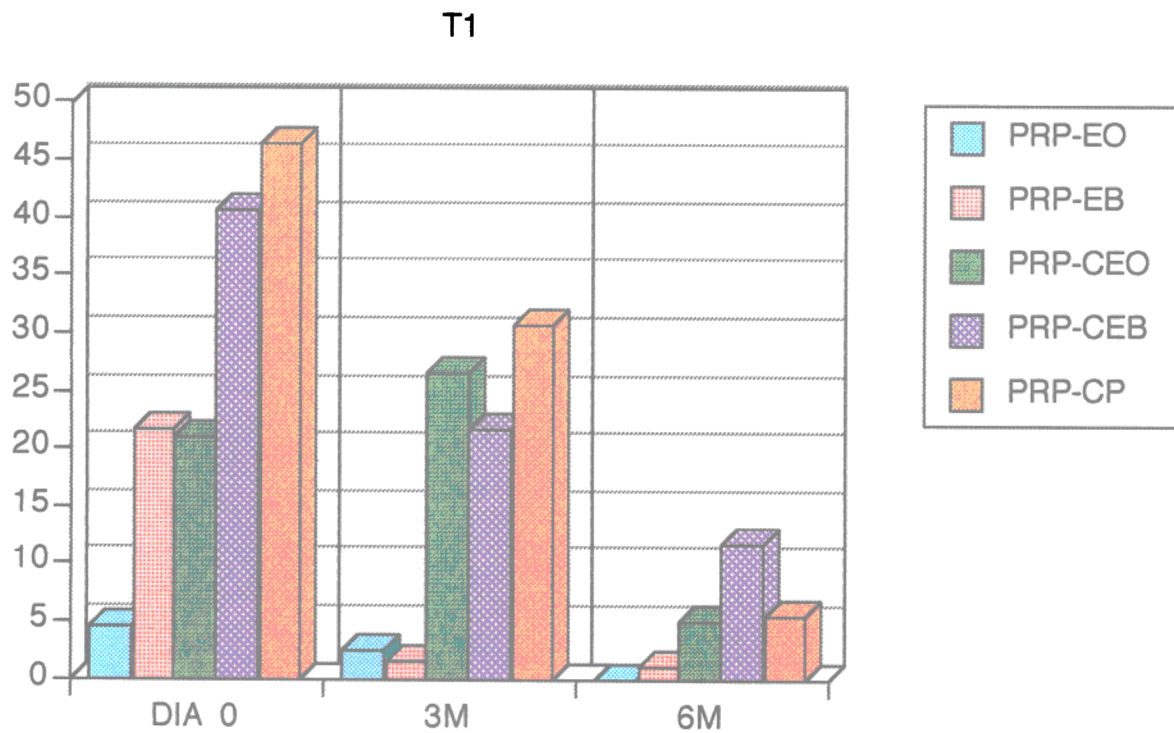
EO: Epitelio oral.

EB: Epitelio de la bolsa.

CEO: Conectivo subyacente al epitelio oral (conectivo superficial).

CEB: Conectivo subyacente al epitelio de la bolsa.

CP: Conectivo profundo.



Gráfica 21. Distribución de las células T según las distintas localizaciones en la PRP.

T11

	PCA-EO	PCA-EB	PCA-CEO	PCA-CEB	PCA-CP
DIA 0	7,4 \pm 9,42	19	20 \pm 6,74	22,5 \pm 9,19	34,66 \pm 28,37
PT	6 \pm 8,48	0	15,66 \pm 21,36	2 \pm 2,82	13 \pm 18,38
3M	5 \pm 7,07	NV	30 \pm 7,02	NV	10

Tabla 26. Media \pm desviación estándar del número de células T en las distintas localizaciones de la periodontitis crónica del adulto (PCA).

EO: Epitelio oral.

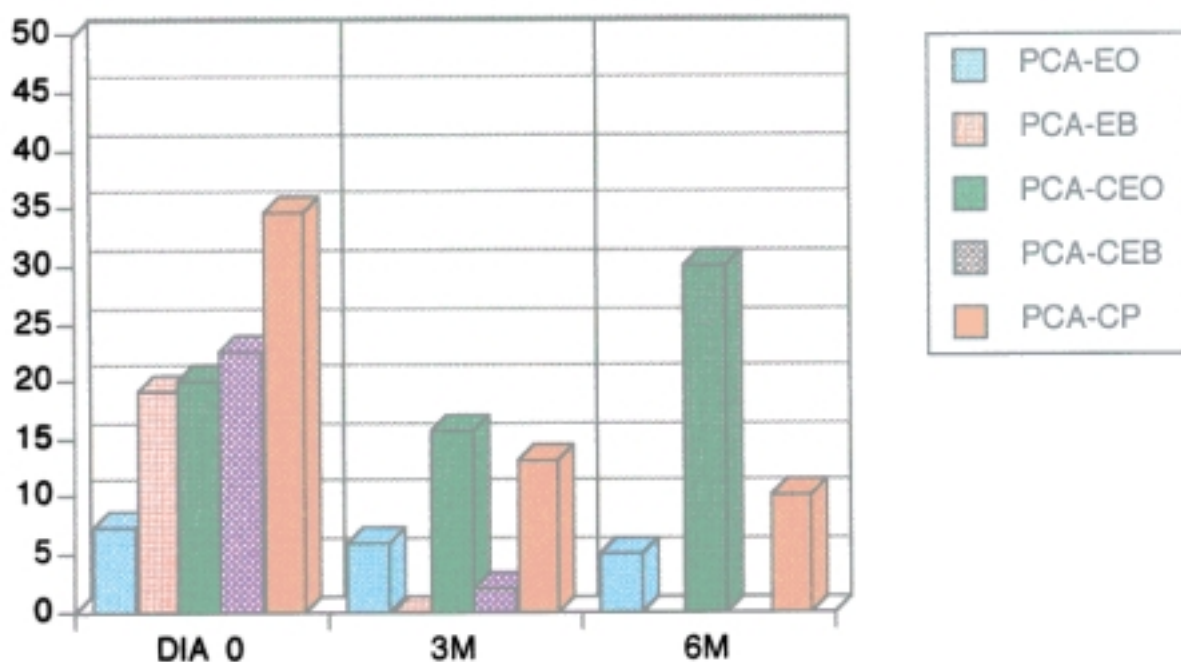
EB: Epitelio de la bolsa.

CEO: Conectivo subyacente al epitelio oral (conectivo superficial).

CEB: Conectivo subyacente al epitelio de la bolsa.

CP: Conectivo profundo.

T11



Gráfica 22. Distribución de las células T según las distintas localizaciones en la PCA.

B) Anticuerpo T4.

En el día 0, el número de células marcadas con este anticuerpo, es nuevamente mayor en la PRP, pero con una diferencia no significativa. Una vez realizado el tratamiento, se produce una importante disminución en ambos grupos, para al sexto mes del estudio seguir disminuyendo, pero ya de forma poco acusada. En ningún momento hubo significación estadística intergrupos, pero sí la hubo intragrupo. (Tabla 27, gráfica 23).

T4

	DIA 0	3M	6M
PRP	40 \pm 17,35	4,8 \pm 2,09	0
PCA	29 \pm 13,92	2,8 \pm 1,74	0,6 \pm 0,4

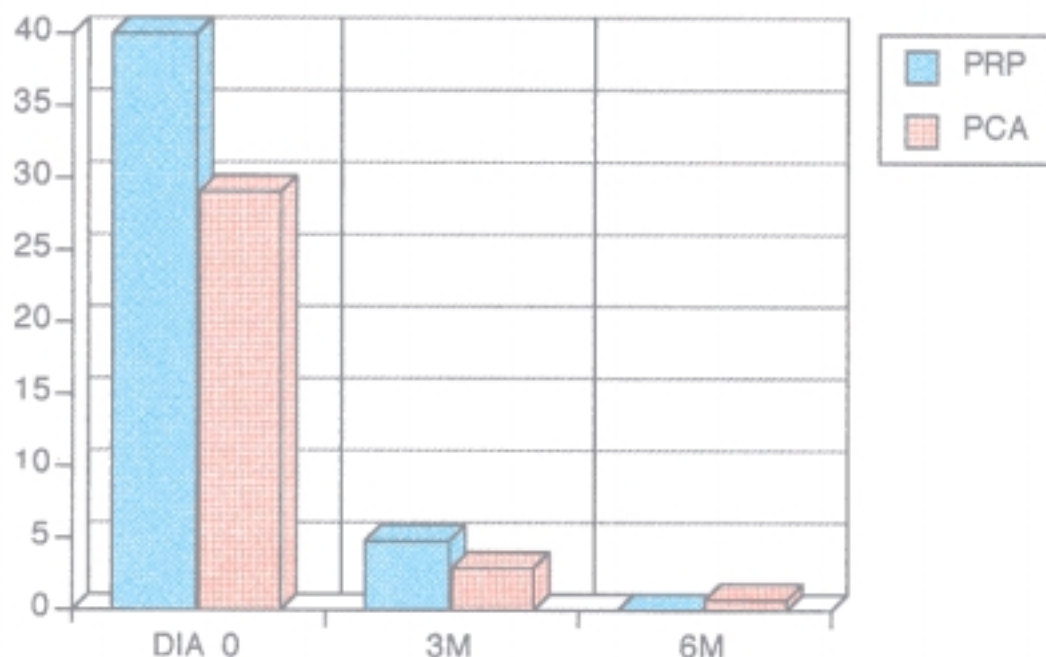
Tabla 27. Media de las medias de las distintas localizaciones (epitelio oral, epitelio de las bolsa, conectivo superficial, conectivo profundo y conectivo adyacente al epitelio de la bolsa) \pm error estándar, en el día 0, a los 3 meses y 6 meses.

____ : Estadísticamente significativo. $P: \leq 0,05$

PRP: Periodontitis rápidamente progresiva.

PCA: Periodontitis crónica del adulto.

T4



Gráfica 23. Media del número de células T4, en PRP y PCA, en el día 0, a los 3 meses y 6 meses.

En este caso la distribución de T4 en las diferentes localizaciones, es similar para ambos grupos en el día 0, aunque en más cantidad en la PRP, sobre todo en conectivo subyacente al epitelio de la bolsa y conectivo profundo. El epitelio de la bolsa tiene mayor número de células que el epitelio oral. Al igual que con el T11, en el tercer mes se produce una disminución celular, que sigue hasta el sexto mes, dejando una distribución tras el tratamiento ligeramente diferente para ambos grupos. Así en la PRP podemos encontrar T4 en las tres zonas del conectivo (sobre todo en el subyacente al epitelio oral), sin embargo en la PCA desaparecen del conectivo subyacente a la bolsa periodontal. (Tablas 28, 29; gráficas 24, 25).

T4

	PRP-EO	PRP-EB	PRP-CEO	PRP-CEB	PRP-CP
DIA 0	2	13	23	71	91
3M	1 \pm 2,23	0	10,6 \pm 16,99	4 \pm 5,65	8,8 \pm 14,73
6M	0	0	0	0	0

Tabla 28. Media \pm desviación estándar del número de células T4 en las distintas localizaciones de la periodontitis rápidamente progresiva (PRP).

EO: Epitelio oral.

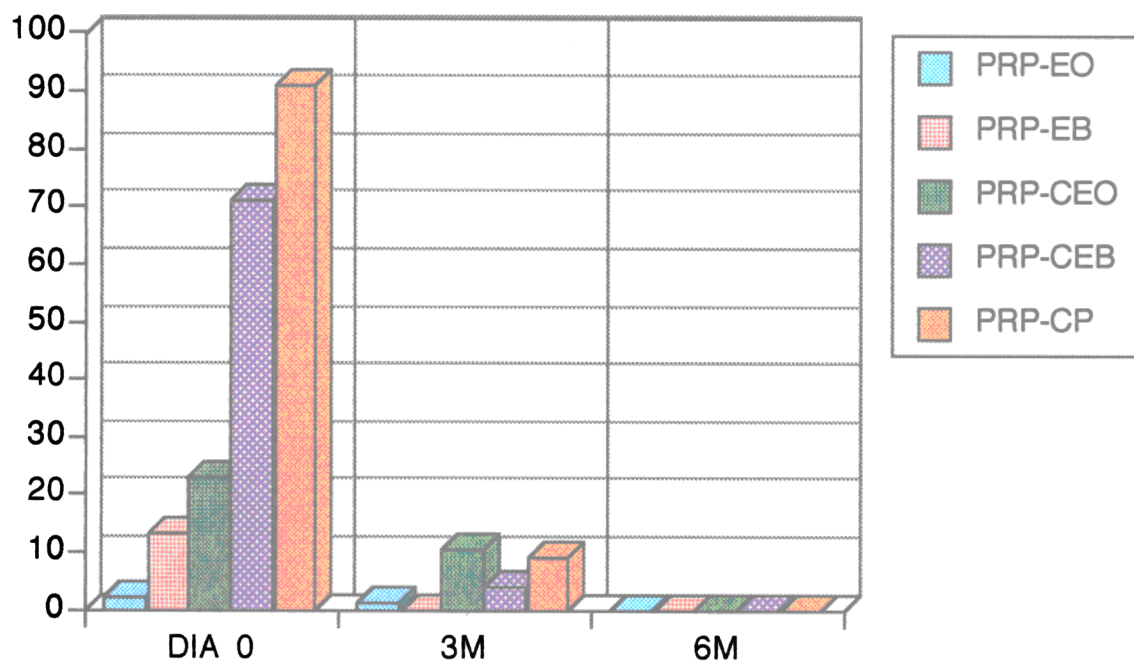
EB: Epitelio de la bolsa.

CEO: Conectivo subyacente al epitelio oral (conectivo superficial).

CEB: Conectivo subyacente al epitelio de la bolsa.

CP: Conectivo profundo.

T4



Gráfica 24. Distribución de las células T4 según las distintas localizaciones en la PRP.

T4

	PCA-EO	PCA-EB	PCE-CEO	PCA-CEB	PCA-CP
DIA 0	2 \pm 2,82	5	15	50	73
3M	0	0	8 \pm 6,92	0	6
6M	0	0	2	0	1

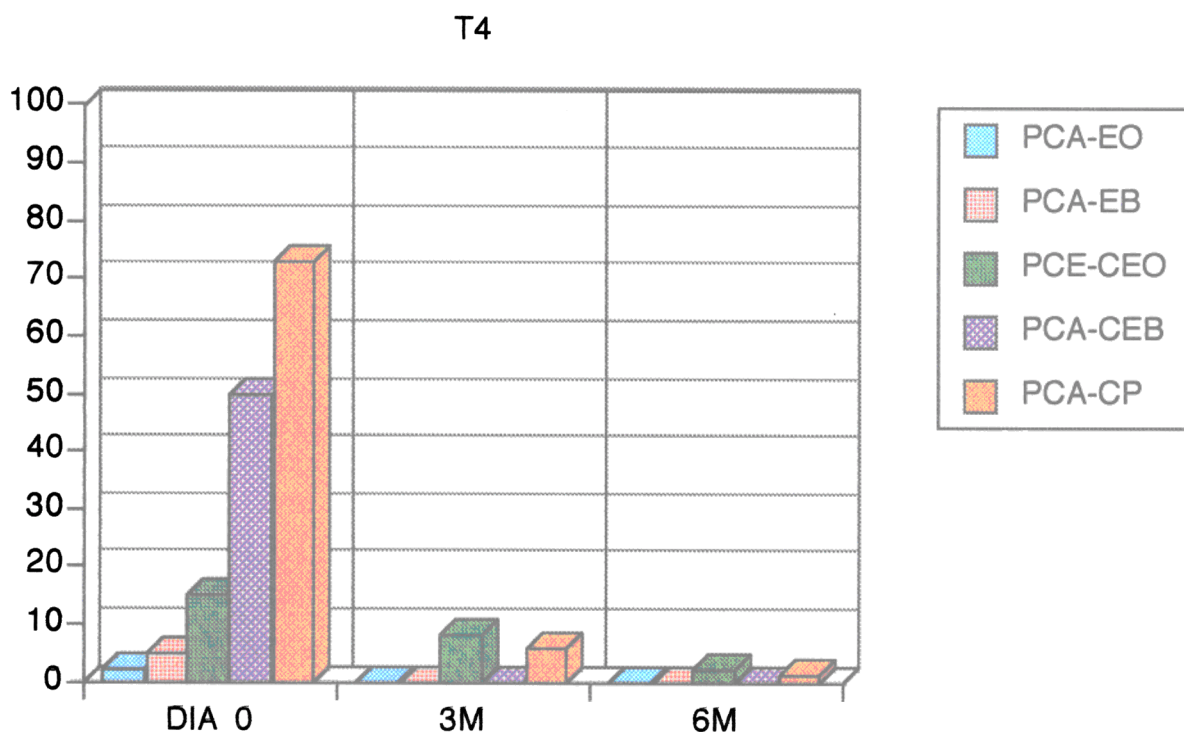
Tabla 29. Media \pm desviación estándar del número de células T4, en las distintas localizaciones de la periodontitis crónica del adulto (PCA).

EO: Epitelio oral.

CEO: Conectivo subyacente al epitelio oral (conectivo superficial).

CEB: Conectivo subyacente al epitelio de la bolsa.

CP: Conectivo profundo.



Gráfica 25. Distribución de las células T4 según las distintas localizaciones en la PCA.

C) Anticuerpo T8.

Los resultados para T8 son muy similares a los anteriores. Mayor cantidad de células en el día 0 en la PRP. En ambos grupos se produce una gran disminución tras el tratamiento y en la cita de los 6 meses. Encontramos diferencias estadísticamente significativas intragrupo, en ambas periodontitis, e intergrupos en la visita a los tres meses. (Tabla 30, gráfica26).

T8

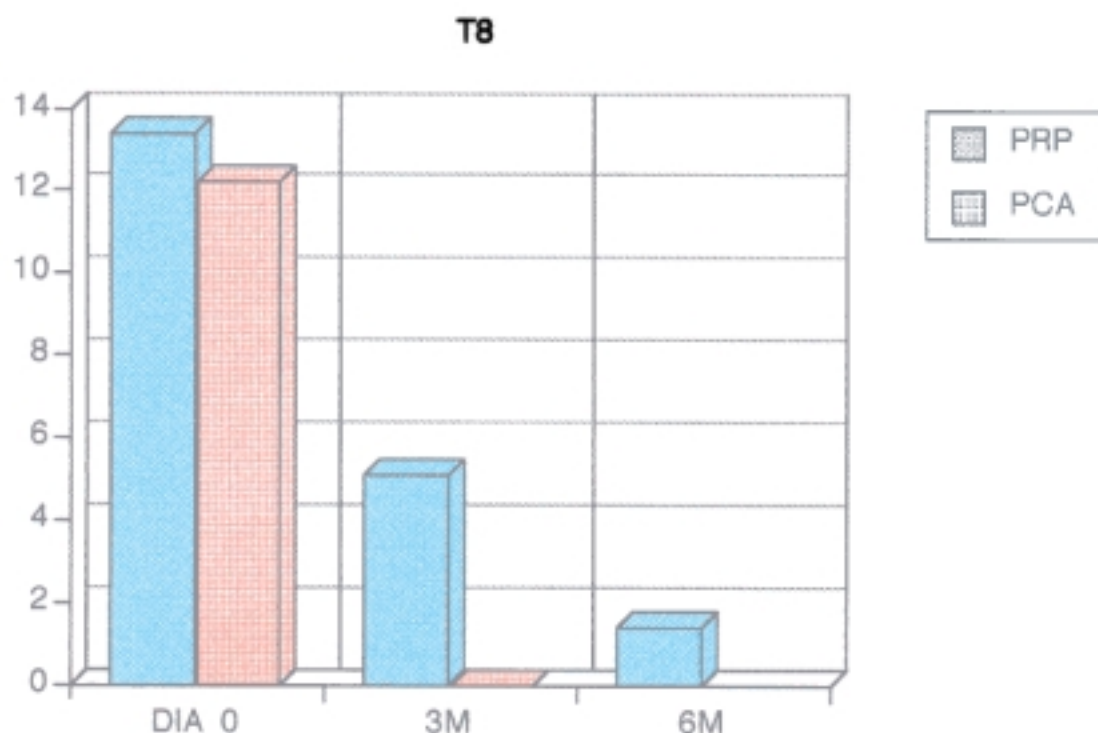
	DIA 0	3M	6M
PRP	13,36 \pm 3,28	5,09 \pm 1,1	1,4 \pm 0,32
PCA	12,24 \pm 1,97	0	NV

Tabla 30. Media de las medias de las distintas localizaciones (epitelio oral, epitelio de las bolsa, conectivo superficial, conectivo profundo y conectivo adyacente al epitelio de la bolsa) \pm error estándar, en el día 0, a los 3 meses y 6 meses.

____ : Estadísticamente significativo. $P: \leq 0,05$.

PRP: Periodontitis rápidamente progresiva.

PCA: Periodontitis crónica del adulto.



Gráfica 26. Media del número de células T8, en PRP y PCA, en el día 0, a los 3 meses y 6 meses.

Analizando la distribución celular por localizaciones en cada grupo, vemos que en el día 0 hay ligeras diferencias entre ambos tipos de periodontitis. En la PRP y en el conectivo, el mayor grupo de células se encuentra situado en la zona profunda y subyacente al epitelio de la bolsa, sin embargo en la PCA el mayor número de células T8 está entre el conectivo profundo y subyacente al epitelio oral. A nivel epitelial, también encontramos situaciones diferentes. Así en la PRP hay mayor T8 en el epitelio oral que en el de la bolsa, y en la PCA es al revés, más células en el epitelio de la bolsa. Con el tratamiento las T8 desaparecen en la PCA, y en la PRP existe un gran descenso en el número de células que se distribuyen sobre todo en el conectivo subyacente al epitelio oral. (Tablas 31, 32; gráficas 27, 28).

T8

	PRP-EO	PRP-EB	PRP-CEO	PRP-CEB	PRP-CP
DIA 0	7,66 \pm 11,59	4,66 \pm 6,42	14,5 \pm 11,44	17 \pm 21,65	23 \pm 17,69
3M	5,2 \pm 11,07	1,25 \pm 2,5	7,8 \pm 15,3	6,6 \pm 10,47	4,6 \pm 7,79
6M	0,75 \pm 1,5	0,5 \pm 1	2 \pm 4	1,75 \pm 3,5	2 \pm 4

Tabla 31. Media \pm desviación estándar del número de células T8 en las distintas localizaciones de la periodontitis rápidamente progresiva (PRP).

EO: Epitelio oral.

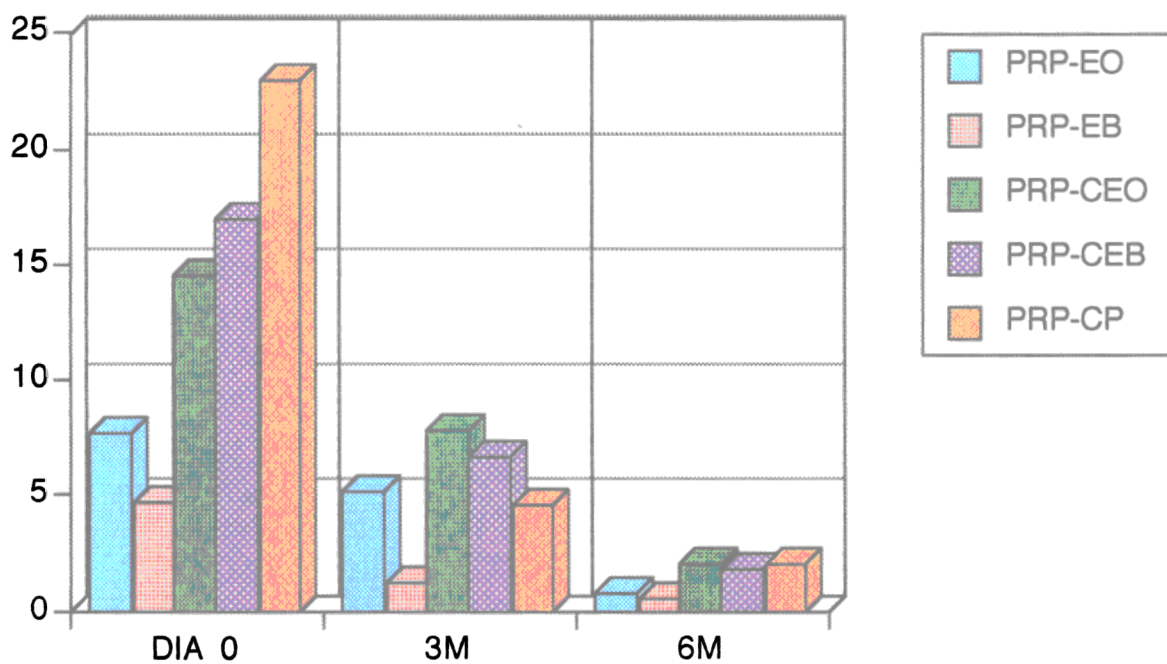
EB: Epitelio de la bolsa.

CEO: Conectivo subyacente al epitelio oral (conectivo superficial).

CEB: Conectivo subyacente al epitelio de la bolsa.

CP: Conectivo profundo.

T8



Gráfica 27. Distribución de las células T8 según las distintas localizaciones en la PRP.

T8

	PCA-EO	PCA-EB	PCA-CEO	PCA-CEB	PCA-CP
DIA 0	5,4 \pm 2,4	12,5 \pm 6,36	17 \pm 7,48	15 \pm 12,72	11,3 \pm 7,23
3M	0	0	0	0	0
6M	NV	NV	NV	NV	NV

Tabla 32. Media \pm desviación estándar del número de células T8, en las distintas localizaciones de la periodontitis crónica del adulto (PCA).

EO: Epitelio oral.

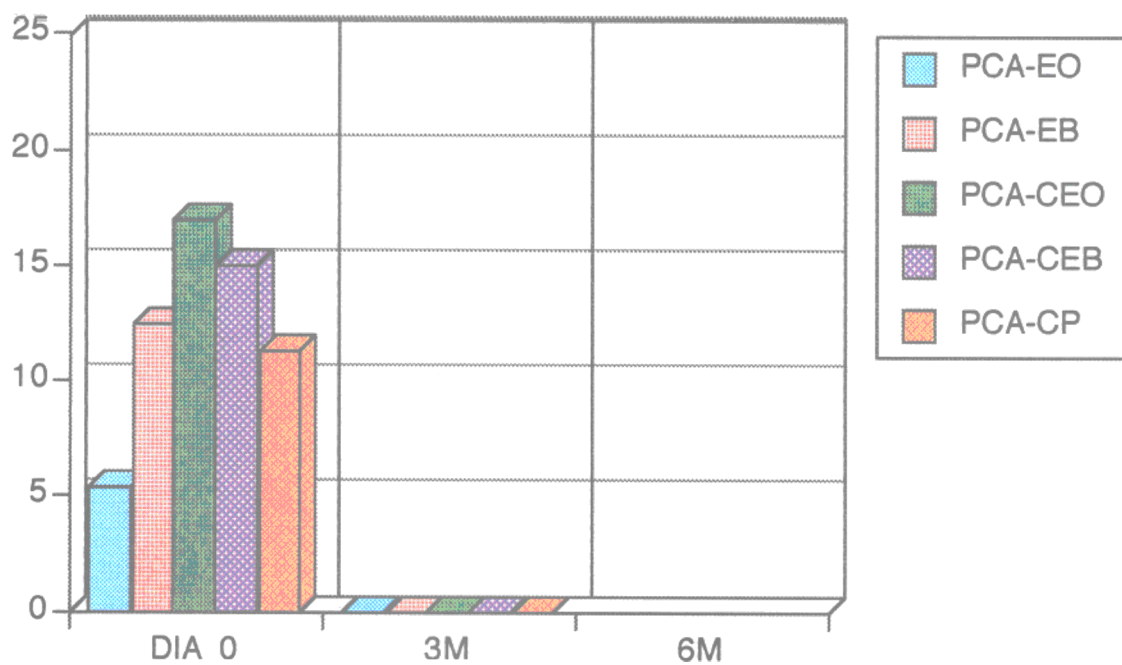
EB: Epitelio de la bolsa.

CEO: Conectivo subyacente al epitelio oral (conectivo superficial).

CEB: Conectivo subyacente al epitelio de la bolsa.

CP: Conectivo profundo.

T8



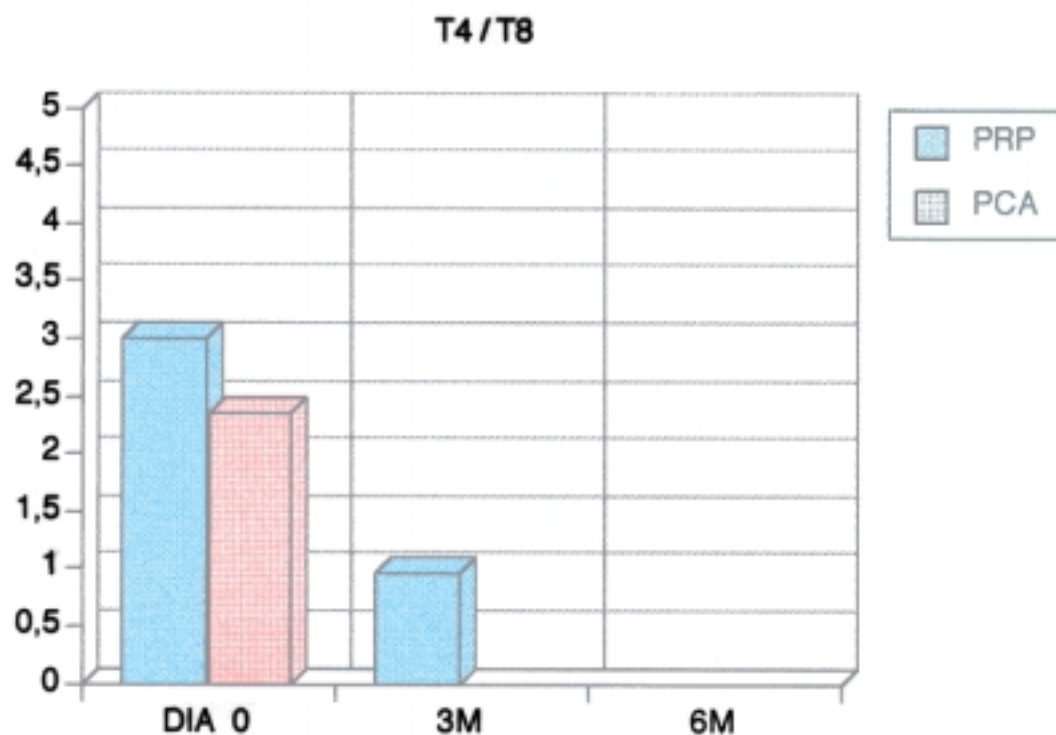
Gráfica 28. Distribución de las células T8 según las distintas localizaciones en la PCA.

D) Cociente T4/T8.

En la periodontitis rápidamente progresiva, y en el día 0, el cociente estaba por encima de lo normal, T4/T8: 2,99; para después del tratamiento descender hasta 0,95. En la periodontitis crónica del adulto las cifras eran de 2,36 antes del tratamiento, y debido a que T8 tras el tratamiento tenía valor 0 no podemos establecer el cociente de T4/T8. (Tabla 33, gráfica 29).

T4/T8			
		PRP	PCA
DIA	0	2,99	2,36
	3M	0,95	NV
	6M	NV	NV

Tabla 33. Cociente T4/T8.



Gráfica 29. Cociente T4/T8.

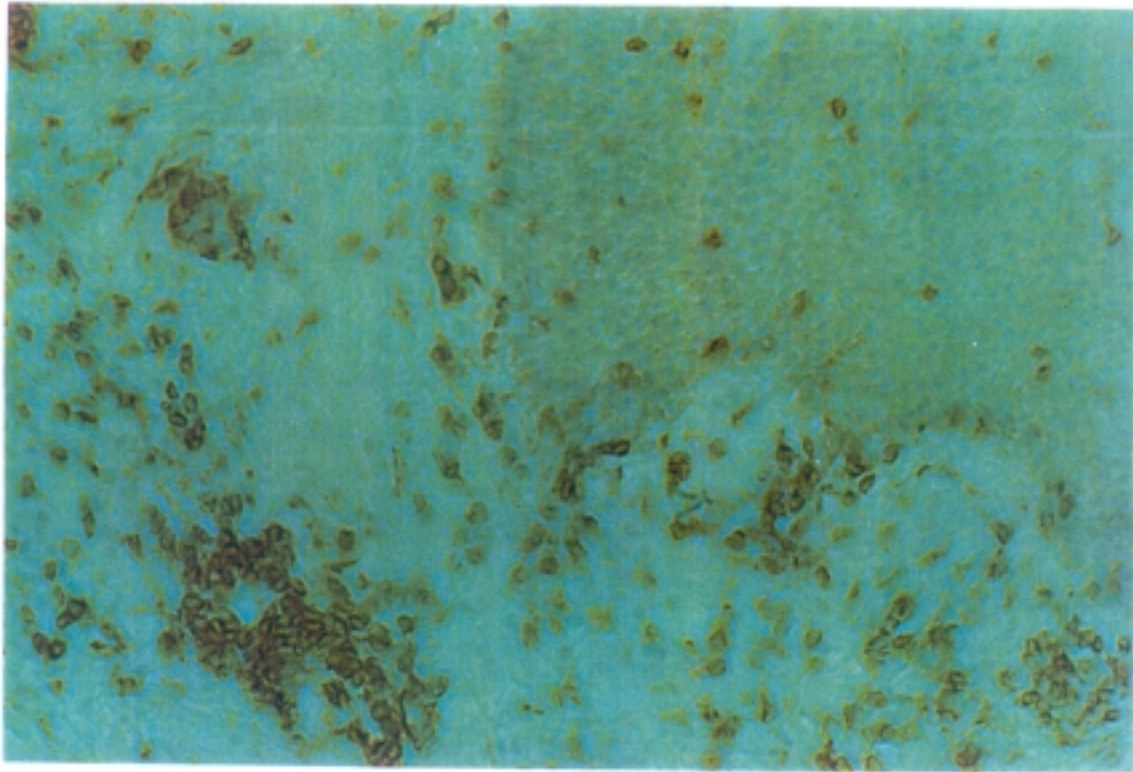


Foto 13. Periodontitis rápidamente progresiva en fase de mantenimiento (3 M). Población de linfocitos T en el infiltrado del corion y con positividad en algunas de las células en exocitosis en el epitelio oral.

(P. A. P. T11 x 200)

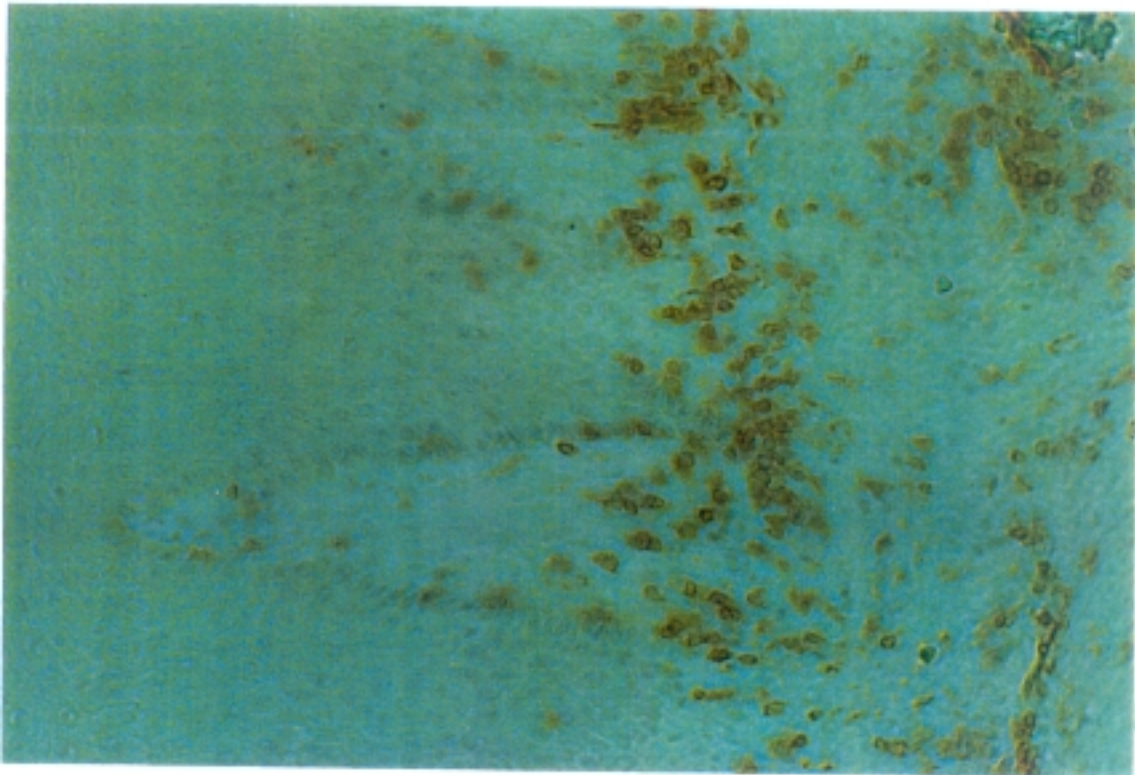


Foto 14. Periodontitis crónica del adulto en fase de mantenimiento (3 M), en la que se observa subpoblación T4 en el infiltrado inflamatorio a nivel del corion en el epitelio oral.

(P. A. P T4 x 200)

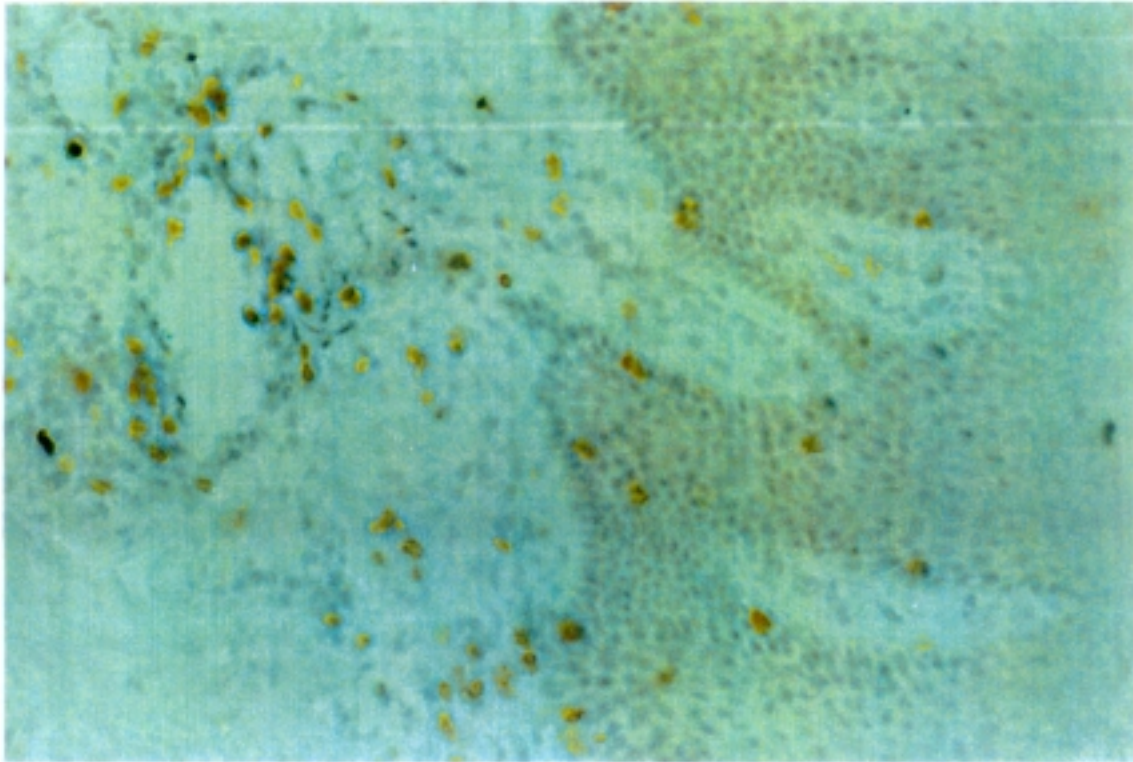


Foto 15. Periodontitis rápidamente progrsiva pretratamiento donde observamos la participación de T8 en infiltrado inflamatorio a nivel del corion próximo al epitelio oral.

(P A. P. T8 x 200)

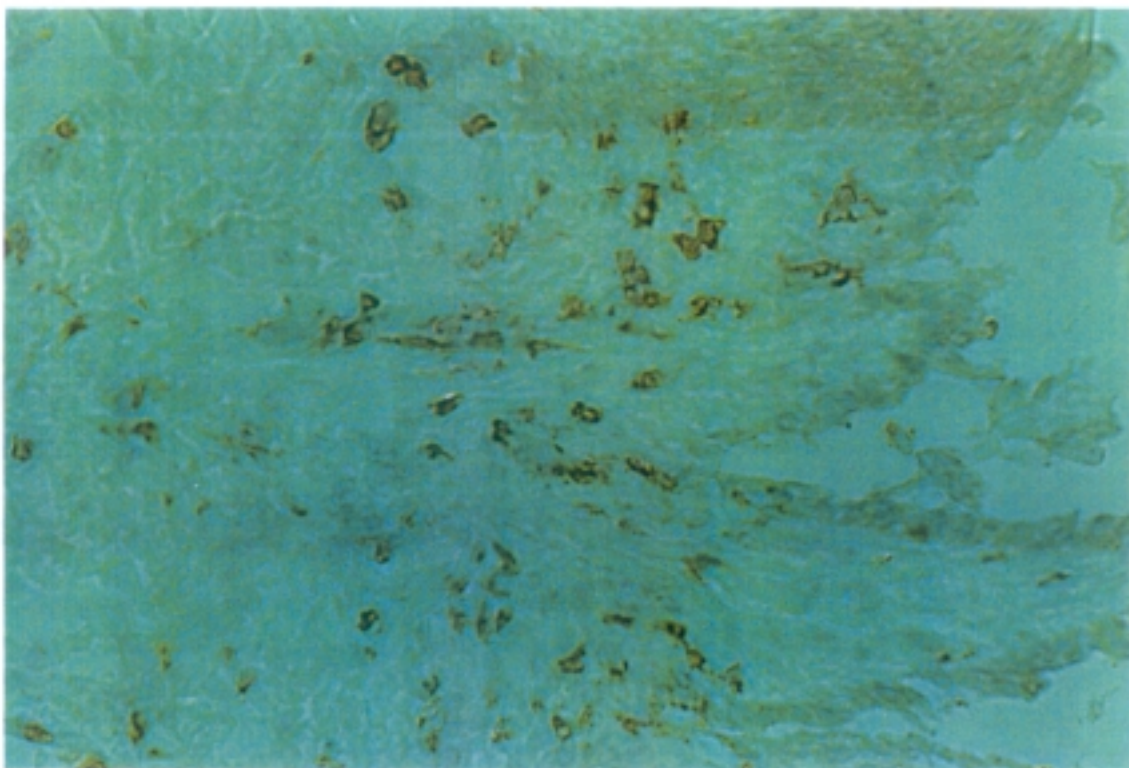


Foto 16. Periodontitis rápidamente progresiva pretratamiento. Infiltrado por subpoblación de células T8 en el corion bajo el epitelio de la bolsa.

(P. A.P. T8 x 200)

2) Linfocitos B.

El infiltrado por células B, en general fue menor que el T, con la siguiente evolución. Antes del tratamiento, el mayor número de células B correspondía a la PRP, con una diferencia importante aunque no estadísticamente significativa con la PCA. Después del tratamiento esta estirpe linfocitaria desaparece totalmente en ambos grupos, quedando únicamente un infiltrado formado por células T. (Tabla 34, gráfica 30).

B

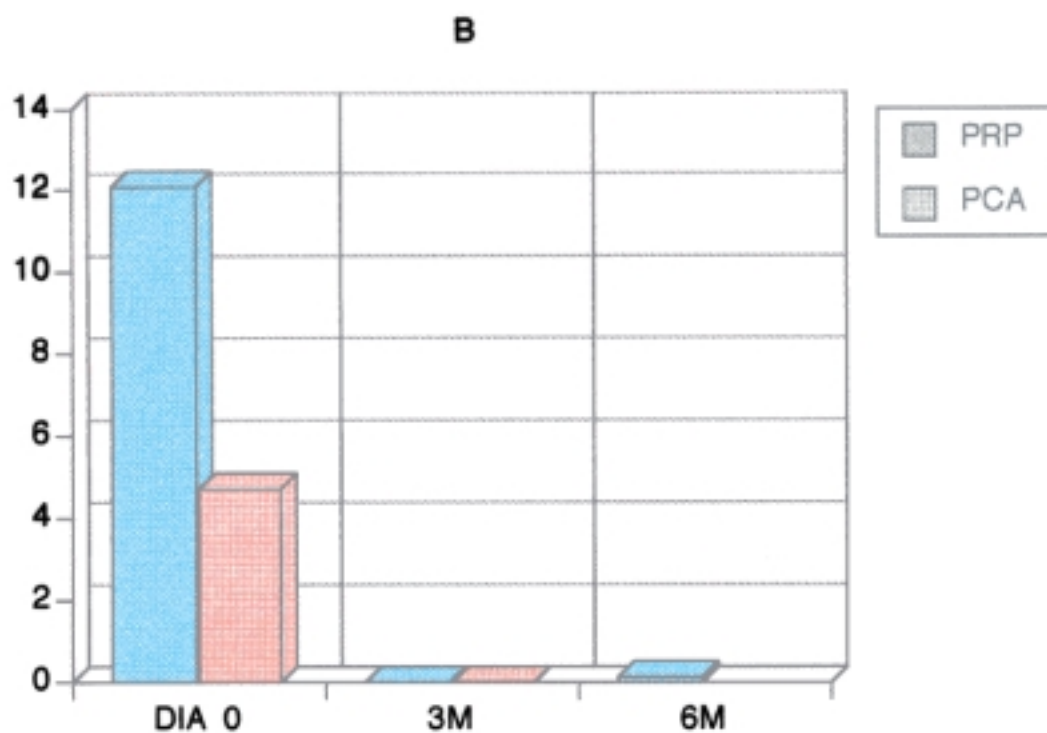
	DIA 0	3M	6M
PRP	12,06 \pm 6,04	0	0,1 \pm 0,1
PCA	4,7 \pm 2,87	0	NV

Tabla 34. Media de las medias de las distintas localizaciones (epitelio oral, epitelio de la bolsa, conectivo superficial, conectivo profundo y conectivo adyacente al epitelio de la bolsa) \pm error estándar, en el día 0, a los 3 meses y 6 meses.

____ : Estadísticamente significativo. $P: \leq 0,05$.

PRP: Periodontitis rápidamente progresiva.

PCA: Periodontitis crónica del adulto.



Gráfica 30. Media del número de células B, en PRP y PCA, en el día 0, a los 3 meses y 6 meses.

Analizando la distribución por localizaciones, encontramos que la mayor diferencia radica en que en la PRP hay por un lado mayor cantidad de células y además se encuentran sobre todo en el conectivo profundo y de la bolsa; en la PCA casi todas aparecen en el conectivo adyacente al epitelio de la bolsa. Respecto a los epitelios el comportamiento de ambos tipos de periodontitis es similar, con un mayor predominio celular en el epitelio de la bolsa. (Tablas 35, 36; gráficas 31,32).

B

	PRP-EO	PRP-EB	PRP-CEO	PRP-CEB	PRP-CP
DIA 0	0	1,33 \pm 2,3	5,66 \pm 8,1	25,66 \pm 31,94	27,66 28,53
3M	0	0	0	0	0
6M	0	0	0	0	0,5 \pm 1

Tabla 35. Media \pm desviación estándar del número de células B en las distintas localizaciones de la periodontitis rápidamente progresiva (PRP).

EO: Epitelio oral.

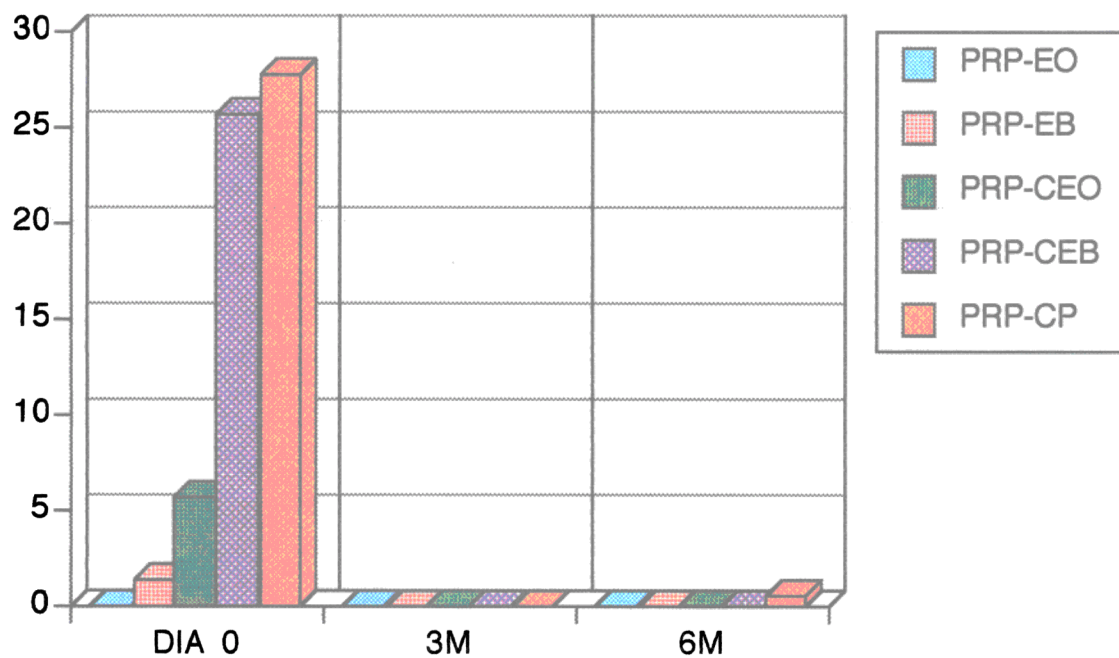
EB: Epitelio de la bolsa.

CEO: Conectivo subyacente al epitelio oral (conectivo superficial).

CEB: Conectivo subyacente al epitelio de la bolsa.

CP: Conectivo profundo.

B



Gráfica 31. Distribución de las células B según las distintas localizaciones en la PRP.

B

	PCA-EO	PCA-EB	PCA-CEO	PCA-CEB	PCA-CP
DIA 0	0	3	2,5 \pm 0,7	16	2
3M	0	0	0	0	0
6M	NV	NV	NV	NV	NV

Tabla 36. Media \pm desviación estándar del número de células B, en las distintas localizaciones de la periodontitis crónica del adulto (PCA).

EO: Epitelio oral.

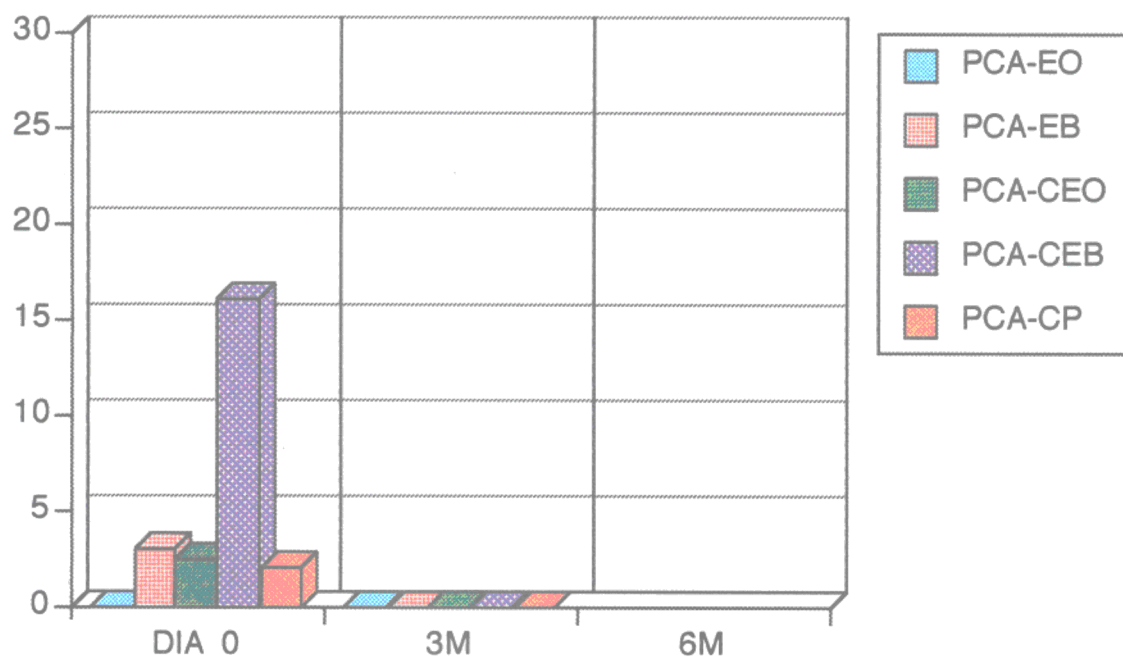
EB: Epitelio de la bolsa.

CEO: Conectivo subyacente al epitelio oral (conectivo superficial).

CEB: Conectivo subyacente al epitelio de la bolsa.

CP: Conectivo profundo.

B



Gráfica 32. Distribución de las células B según las distintas localizaciones en la PCA.

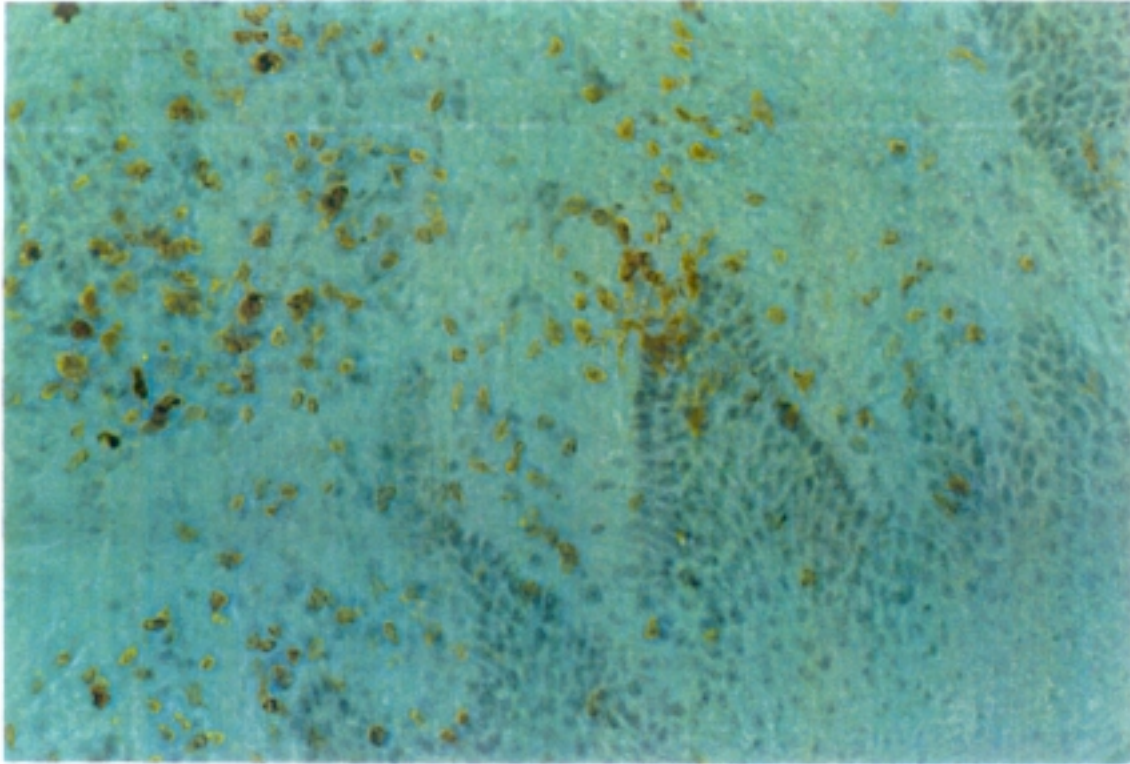


Foto 17. Periodontitis rápidamente progresiva pretratamiento observándose una alta proporción de linfocitos B en el infiltrado inflamatorio del corion y algunos en el epitelio oral.

(P. A. P. B x 200)

3) Células Natural-Killer. (NK)

En nuestro trabajo hemos encontrado un infiltrado de células NK, bastante más bajo que de linfocitos T y B. Respecto a los diferentes grupos, en la PRP el número de NK era mayor que en la PCA, muy cerca de tener significación estadística. Con el tratamiento en ambos grupos disminuye la cantidad de células, siendo significativo para la PRP. (Tabla 37, gráfica 33).

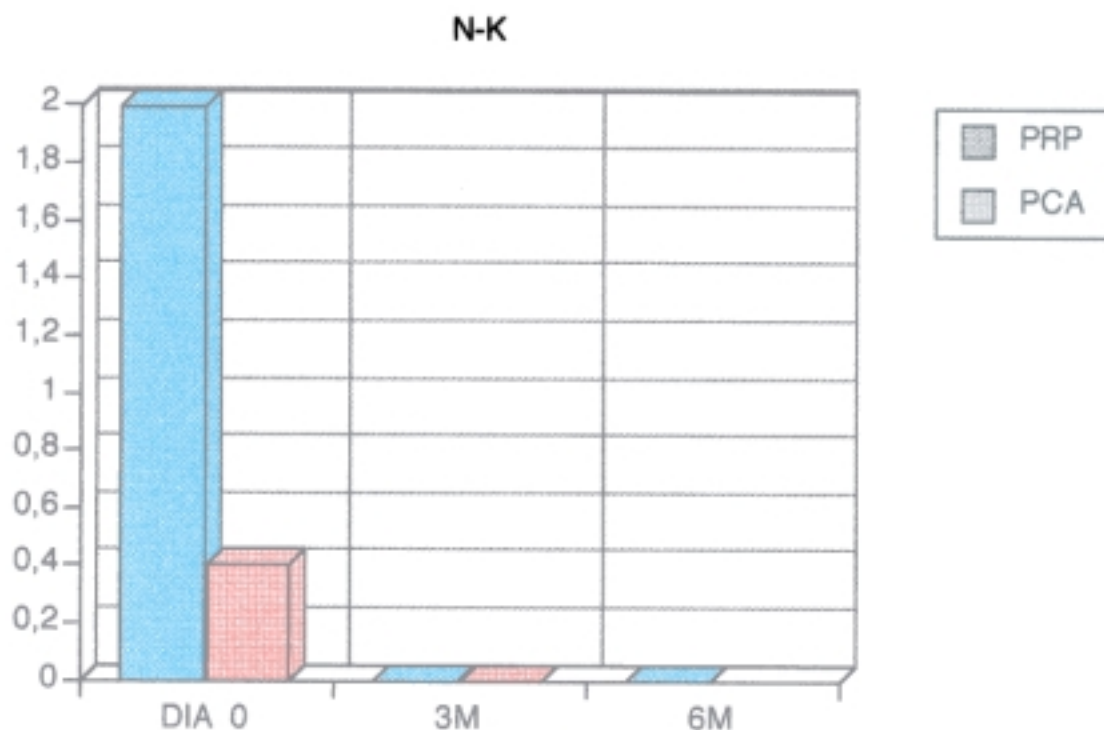
N-K			
	DIA 0	3M	6M
PRP	2 \pm 0,89	0	0
PCA	0,4 \pm 0,4	0	NV

Tabla 37. Media de las medias de las distintas localizaciones (epitelio oral, epitelio de las bolsa, conectivo superficial, conectivo profundo y conectivo adyacente al epitelio de la bolsa) \pm error estándar, en el día 0, a los 3 meses y 6 meses.

_____: Estadísticamente significativo. $P: \leq 0,05$.

PRP: Periodontitis rápidamente progresiva.

PCA: Periodontitis crónica del adulto.



Gráfica 33. Media del número de células NK, en PRP y PCA, en el día 0, a los 3 meses y 6 meses.

La distribución de las células Natural-Killer, tiene un patrón diferente para cada tipo de periodontitis. En el día 0, en la PRP se localizan a nivel de conectivo profundo y subyacente al epitelio de la bolsa, sin embargo en la PCA en el conectivo superficial. En los epitelios solo encontramos células en el epitelio de la bolsa de la PRP. Tras el tratamiento, esta estirpe celular desaparece. (Tablas 38, 39; gráficas 34, 35).

N-K

	PRP-EO	PRP-EB	PRP-CEO	PRP-CEB	PRP-CP
DIA 0	0	4	0	2	4
3M	0	0	0	0	0
6M	0	0	0	0	0

Tabla 38. Media \pm desviación estándar del número de células NK en las distintas localizaciones de la periodontitis rápidamente progresiva (PRP).

EO: Epitelio oral.

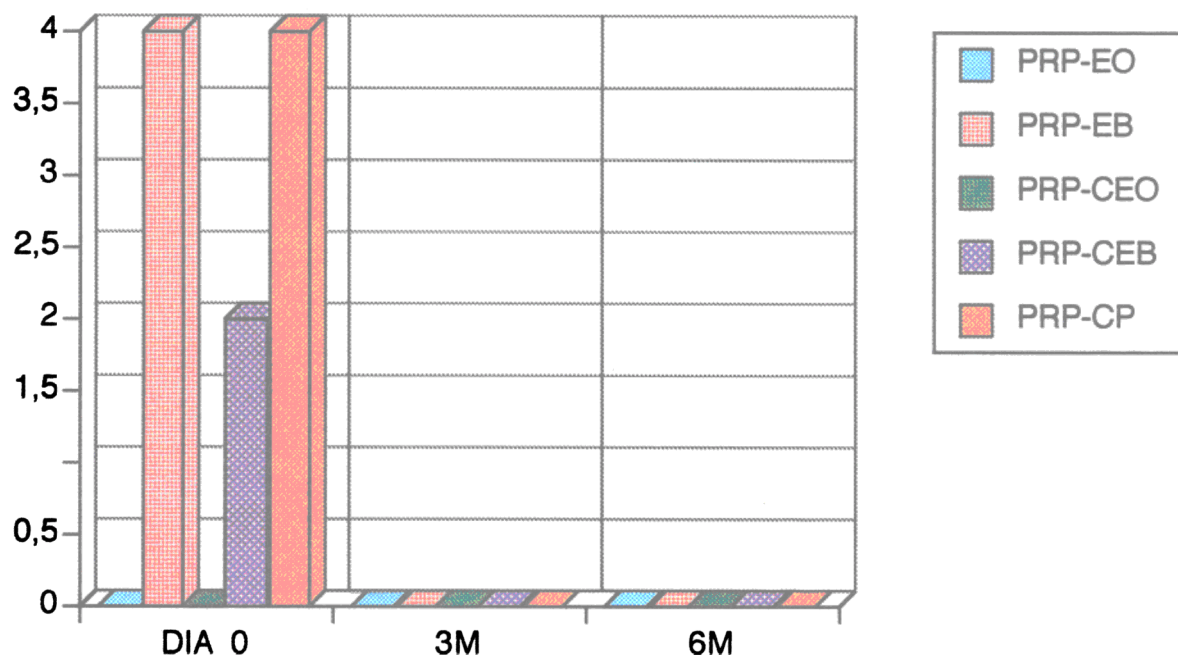
EB: Epitelio de la bolsa.

CEO: Conectivo subyacente al epitelio oral (conectivo superficial).

CEB: Conectivo subyacente al epitelio de la bolsa.

CP: Conectivo profundo.

N-K



Gráfica 34. Distribución de las células NK, según las distintas localizaciones en la PRP.

N-K

	PCA-EO	PCA-EB	PCA-CEO	PCA-CEB	PCA-CP
DIA 0	0	0	2 \pm 2,82	0	0
3M	0	0	0	0	0
6M	NV	NV	NV	NV	NV

Tabla 39. Media \pm desviación estándar del número de células NK en las distintas localizaciones de la periodontitis crónica del adulto (PCA).

EO: Epitelio oral.

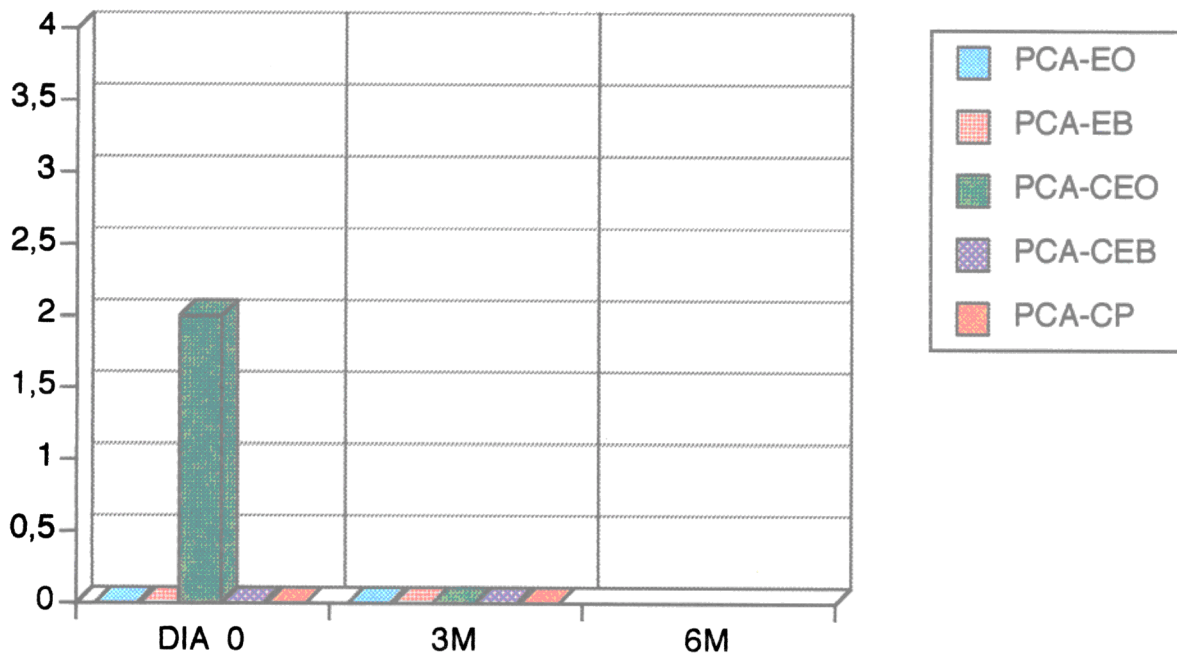
EB: Epitelio de la bolsa.

CEO: Conectivo subyacente al epitelio oral (conectivo superficial).

CEB: Conectivo subyacente al epitelio de la bolsa.

CP: Conectivo profundo.

N-K



Gráfica 35. Distribución de las células NK, según las distintas localizaciones en la PCA.

4) Células de Langerhans.

Observamos en nuestros resultados que las células de Langerhans, se encuentran al principio del estudio en mayor número en la PRP, que en la PCA, y esta diferencia no es estadísticamente significativa. Sin embargo con el tratamiento esta diferencia desaparece, para a los seis meses del estudio invertir las cifras, a favor de la PCA. En ningún caso hubo diferencias estadísticamente significativas intragrupo, ni intergrupos. (Tabla 40, gráfica 36).

CELULAS DE LANGERHANS

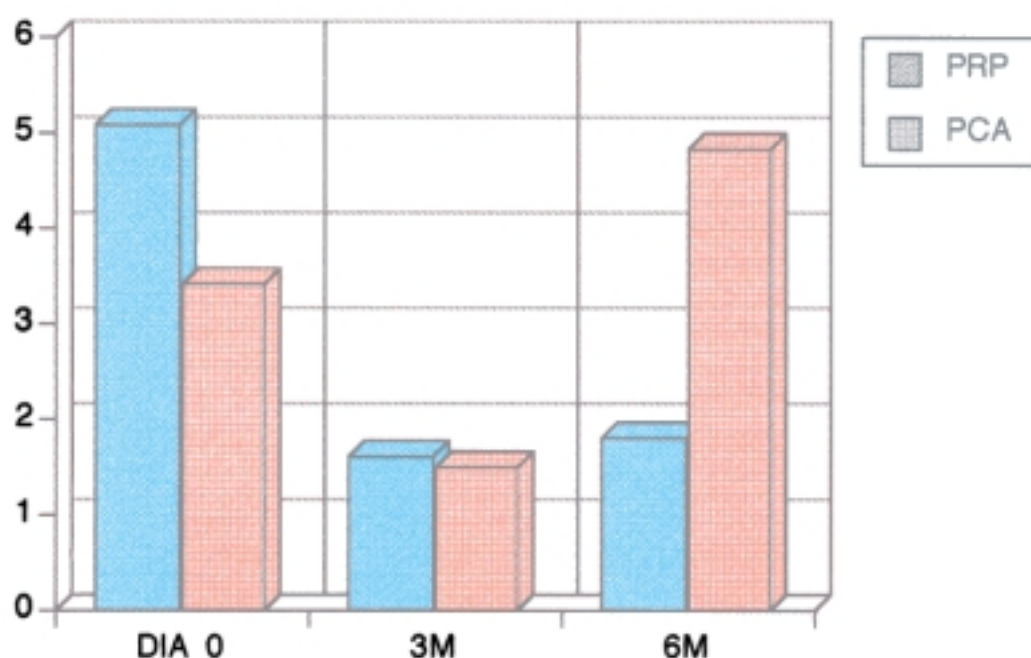
	DIA 0	3M	6M
PRP	5,08 \pm 1,92	1,6 \pm 0,2	1,8 \pm 0,2
PCA	3,4 \pm 1,4	1,5 \pm 1,5	4,83 \pm 2,17

Tabla 40. Media de las medias de las distintas localizaciones (epitelio oral, epitelio de las bolsa, conectivo superficial, conectivo profundo y conectivo adyacente el epitelio de la bolsa) \pm error estándar, en el día 0, a los 3 meses y 6 meses.

PRP: Periodontitis rápidamente progresiva.

PCA: Periodontitis crónica del adulto.

CELULAS DE LANGERHANS



Gráfica 36. Media del número de células de Langerhans, en PRP y PCA, en el día 0, a los 3 meses y 6 meses.

El comportamiento de ambos tipos de periodontitis, respecto a este tipo de células, es totalmente diferente. En la PRP, antes del tratamiento, encontramos mayor número de células en el epitelio de la bolsa, y en la PCA en el epitelio oral. Después del tratamiento el número disminuyó en ambos grupos, y mientras en la PRP este descenso se mantuvo al sexto mes, en la PCA se produce un importante aumento a nivel del epitelio de la bolsa. (Tablas 41, 42; gráficas 37, 38).

CELULAS DE LANGERHANS

	PRP-EO	PRP-EB
DIA 0	3,16 \pm 1,72	7
3M	1,8 \pm 2,48	1,4 \pm 3,1
6M	2 \pm 2,73	1,6 \pm 2,3

Tabla 41. Media \pm desviación estándar del número de células de Langerhans en las distintas localizaciones de la periodontitis rápidamente progresiva (PRP).

EO: Epitelio oral.

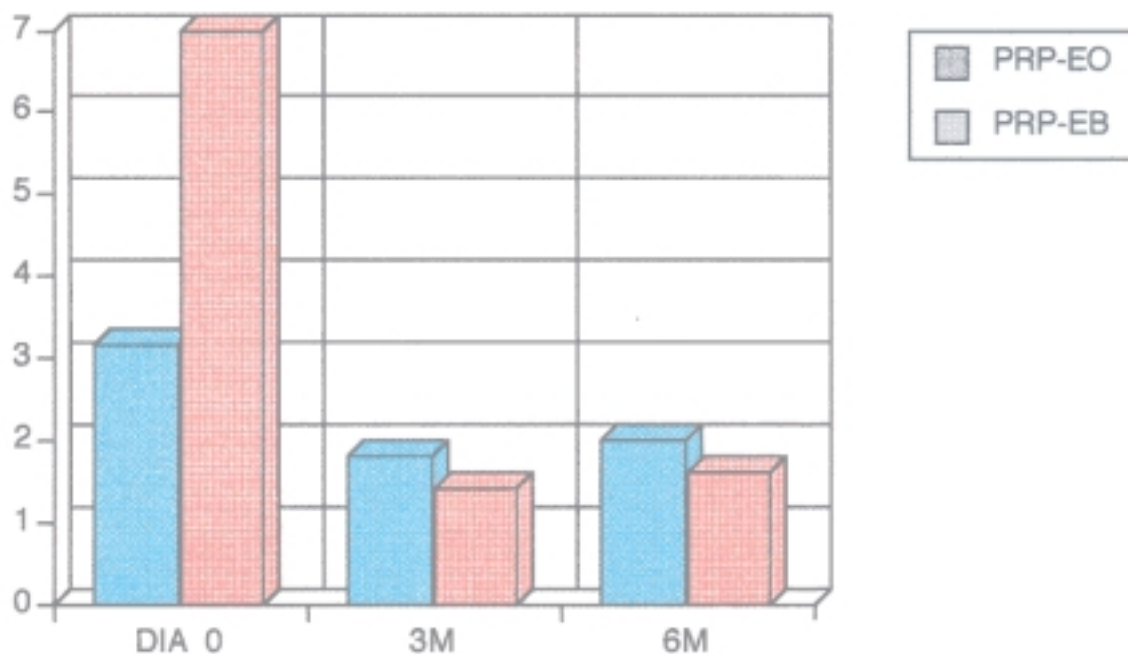
EB: Epitelio de la bolsa.

CEO: Conectivo subyacente al epitelio oral (conectivo superficial).

CEB: Conectivo subyacente al epitelio de la bolsa.

CP: Conectivo profundo.

CELULAS DE LANGERHANS



Gráfica 37. Distribución de las células de Langerhans, según las distintas localizaciones en la PRP.

CELULAS DE LANGERHANS

	PCA-EO	PCA-EB
DIA 0	4,8 \pm 1,92	2 \pm 2,82
3M	3 \pm 2,64	0
6M	2,66 \pm 0,57	7

Tabla 42. Media \pm desviación estándar del número de células de Langerhans en las distintas localizaciones de la periodontitis crónica del adulto (PCA).

EO: Epitelio oral.

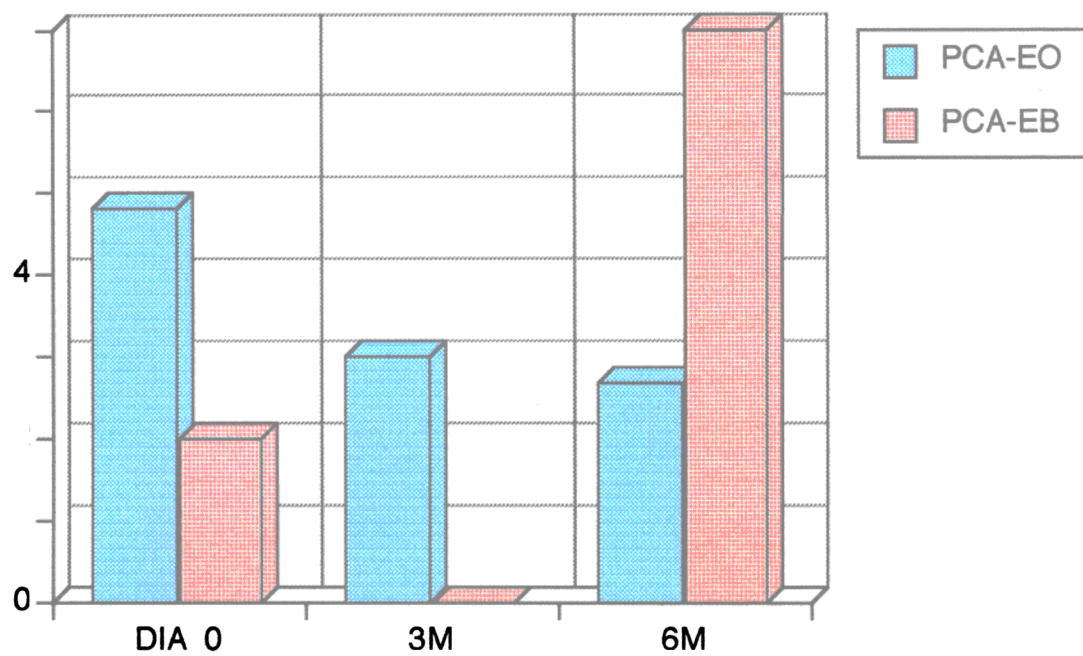
EB: Epitelio de la bolsa.

CEO: Conectivo subyacente al epitelio oral (conectivo superficial).

CEB: Conectivo subyacente al epitelio de la bolsa.

CP: Conectivo profundo.

CELULAS DE LANGERHANS



Gráfica 38. Distribución de las células de Langerhans, según las distintas localizaciones en la PRP.

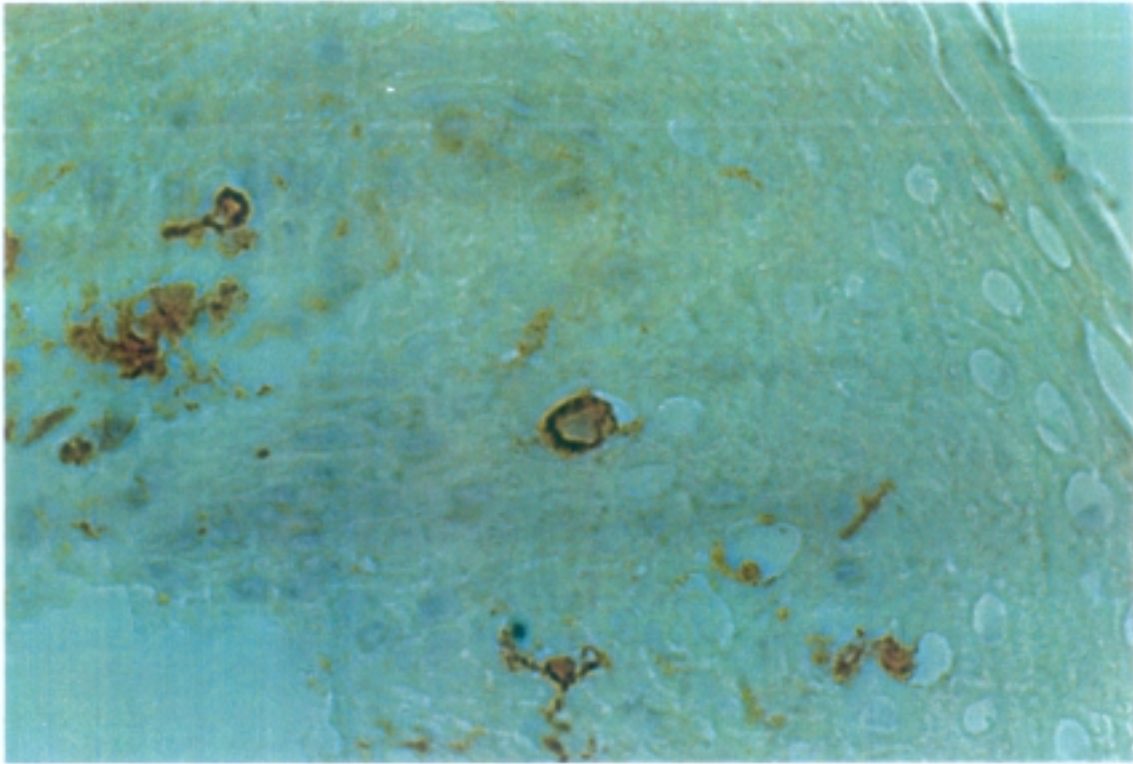


Foto 18. Periodontitis rápidamente progresiva pretratamiento. Células de Langerhans en el epitelio oral.

(P. A. P. OKIa x 450)

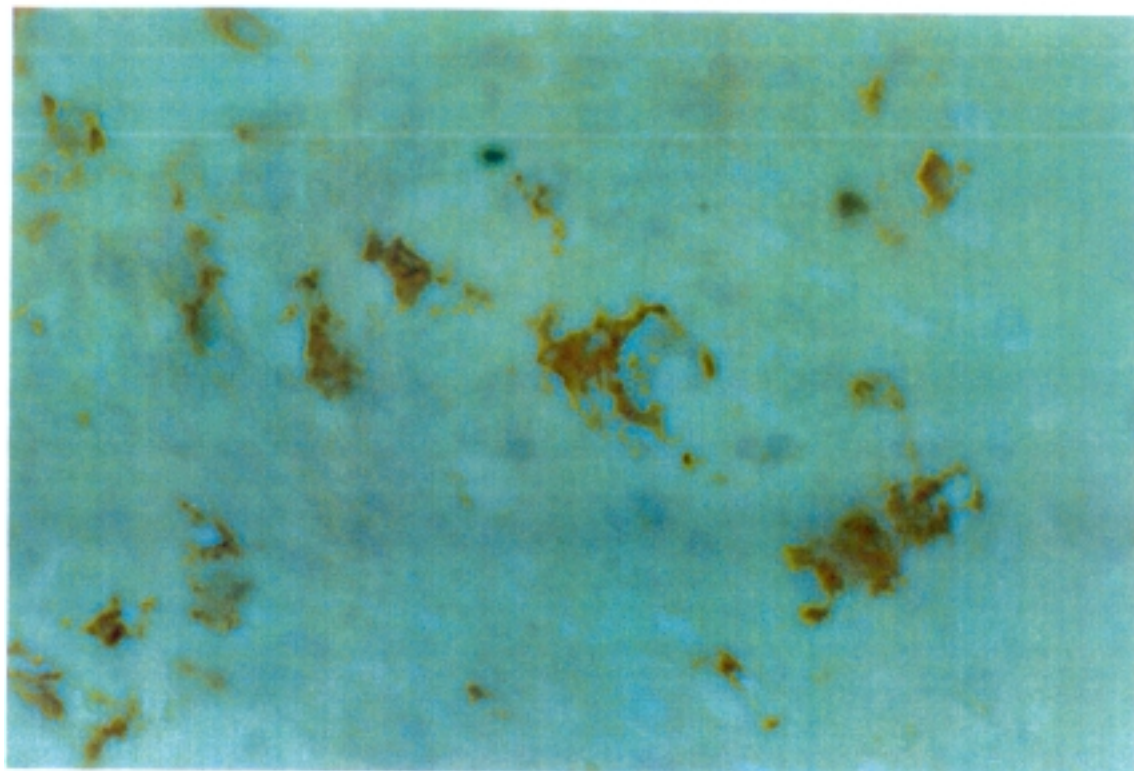


Foto 19. Periodontitis rápidamente progresiva pretratamiento en la que se observa la positividad de células de Langerhans en el epitelio oral.

(P. A. P. OKIa x 400)

5) Linfocitos y macrófagos activados.

El patrón es muy similar al de las células de Langerhans, con un infiltrado más intenso en la PRP que en la PCA en el día 0. A pesar del tratamiento (tercer mes) esta diferencia entre ambos grupos sigue existiendo, aunque con un número menor de células para los dos. Este descenso continúa en la PRP en el sexto mes, pero en la PCA sin embargo, se produce un ligero aumento que no llega a alcanzar las cifras iniciales. No encontramos diferencias intergrupos, pero sí intragrupos. (Tabla 43, gráfica 39).

LINFOCITOS Y MACROFAGOS ACTIVADOS

	DIA 0	3M	6M
PRP	14,04 \pm 6,12	5,82 \pm 2,47	3,72 \pm 1,67
PCA	9,36 \pm 3,13	1,56 \pm 0,82	6,2 \pm 2,35

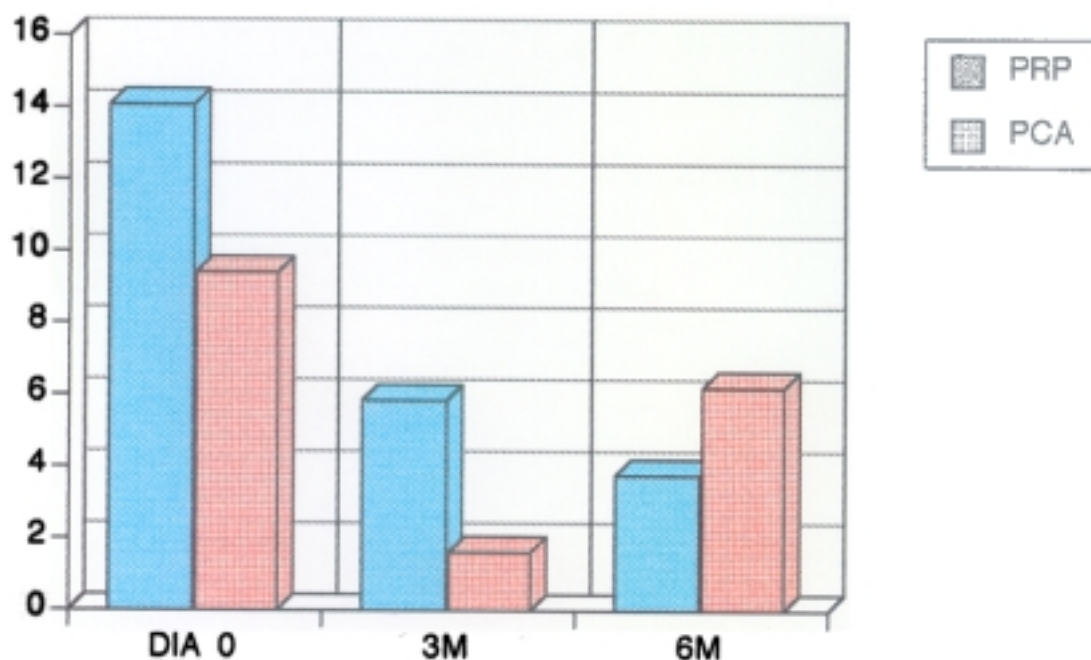
Tabla 43. Media de las medias de las distintas localizaciones (epitelio oral, epitelio de las bolsa, conectivo superficial, conectivo profundo y conectivo adyacente el epitelio de la bolsa) \pm error estándar, en el día 0, a los 3 meses y 6 meses.

____ : Estadísticamente significativo. $P: \leq 0,05$.

PRP: Periodontitis rápidamente progresiva.

PCA: Periodontitis crónica del adulto.

LINF. Y MACROFAGOS ACTIVADOS



Gráfica 39. Media del número de linfocitos y macrófagos activados, en PRP y PCA, en el día 0, a los 3 meses y 6 meses.

Analizando la distribución por zonas, observamos que en la PRP fue similar a lo largo del estudio, con la salvedad de que en los mantenimientos el número de células era cada vez menor. El infiltrado más intenso lo encontramos a nivel de conectivo profundo y adyacente al epitelio de la bolsa. En la PCA, el número de células era bastante menor y se distribuían por un igual en toda la superficie del conectivo. Tras el tratamiento se produce un importante descenso en el infiltrado, pero al sexto mes vuelve a aumentar, localizándose sobre todo, en el conectivo profundo y adyacente al epitelio de la bolsa. (Tablas 44, 45; gráficas 40,41).

LINFOCITOS Y MACROFAGOS ACTIVADOS

	PRP-EO	PRP-EB	PRP-CEO	PRP-CEB	PRP-CP
DIA 0	0,16 \pm 0,4	0	16,33 \pm 17,59	23,25 \pm 33,3	30,5 \pm 31,96
3M	0,6 \pm 1,34	0	8,2 \pm 13,08	7,16 \pm 9,51	13,16 \pm 21,3
6M	0	0	6,6 \pm 11,69	3,8 \pm 6,09	8,2 \pm 13,46

Tabla 44. Media \pm desviación estándar del número de linfocitos y macrófagos activados en las distintas localizaciones de la periodontitis rápidamente progresiva (PRP).

EO: Epitelio oral.

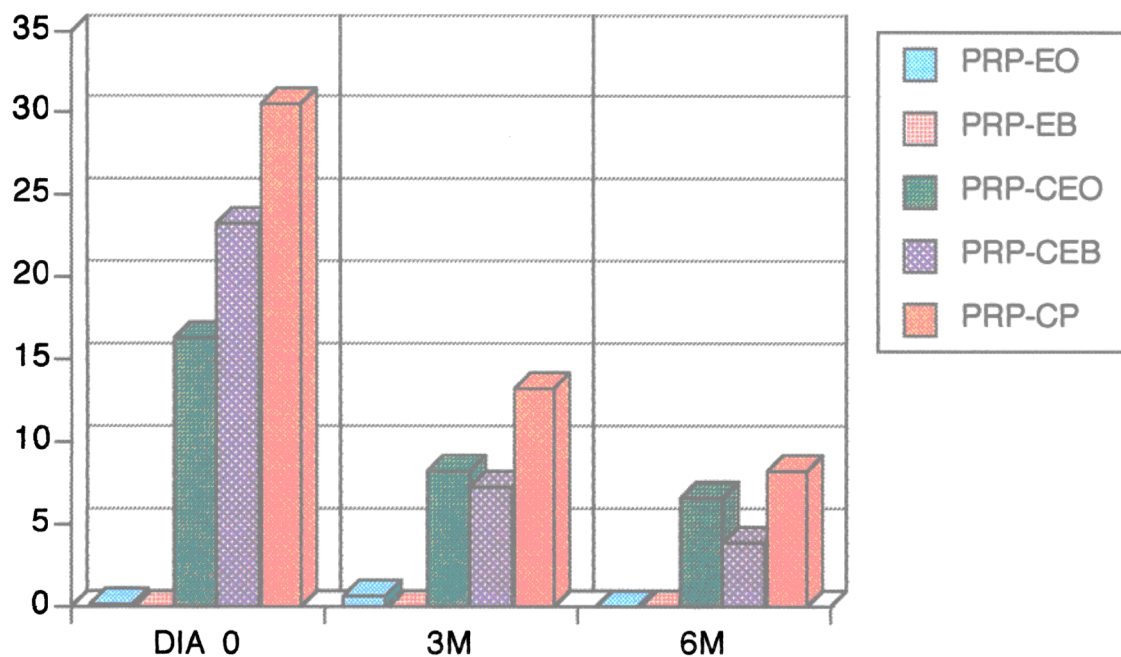
EB: Epitelio de la bolsa.

CEO: Conectivo subyacente al epitelio oral (conectivo superficial).

CEB: Conectivo subyacente al epitelio de la bolsa.

CP: Conectivo profundo.

LINF. Y MACROFAGOS ACTIVADOS



Gráfica 40. Distribución de las células de linfocitos y macrófagos activados, según las distintas localizaciones en la PRP.

LINFOCITOS Y MACROFAGOS ACTIIVADOS

	PCA-EO	PCA-EB	PCA-CEO	PCA-CEB	PCA-CP
DIA 0	0,8 ±1,7	3 ±1,41	15 ±7	16 ±15,55	12 ±12,12
3M	1 ±1,73	0	4,3 ±3,7	2,5 ±3,53	0
6M	0	2	7 ±2	9	13

Tabla 45. Media ± desviación estándar del número de linfocitos y macrófsgos activados en las distintas localizaciones de la periodontitis crónica del adulto (PCA).

EO: Epitelio oral.

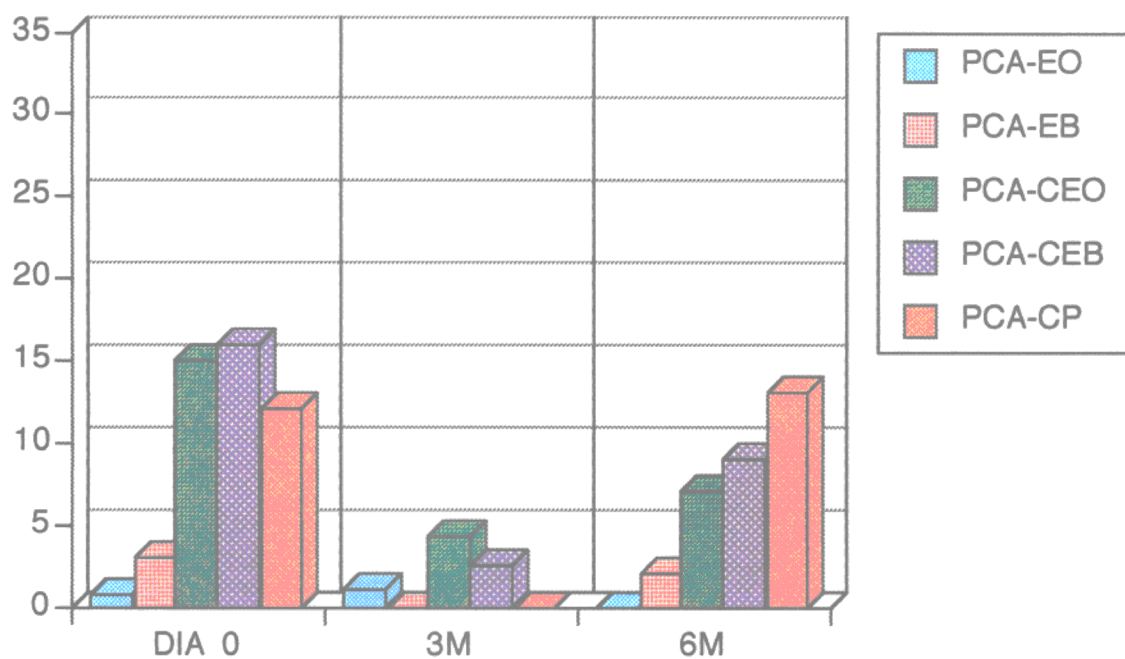
EB: Epitelio de la bolsa.

CEO: Conectivo subyacente al epitelio oral (conectivo superficial).

CEB: Conectivo subyacente al epitelio de la bolsa.

CP: Conectivo profundo.

LINF. Y MACROFAGOS ACTIVADOS



Gráfica 41. Distribución de las células de linfocitos y macrófagos activados, según las distintas localizaciones en la PCA.

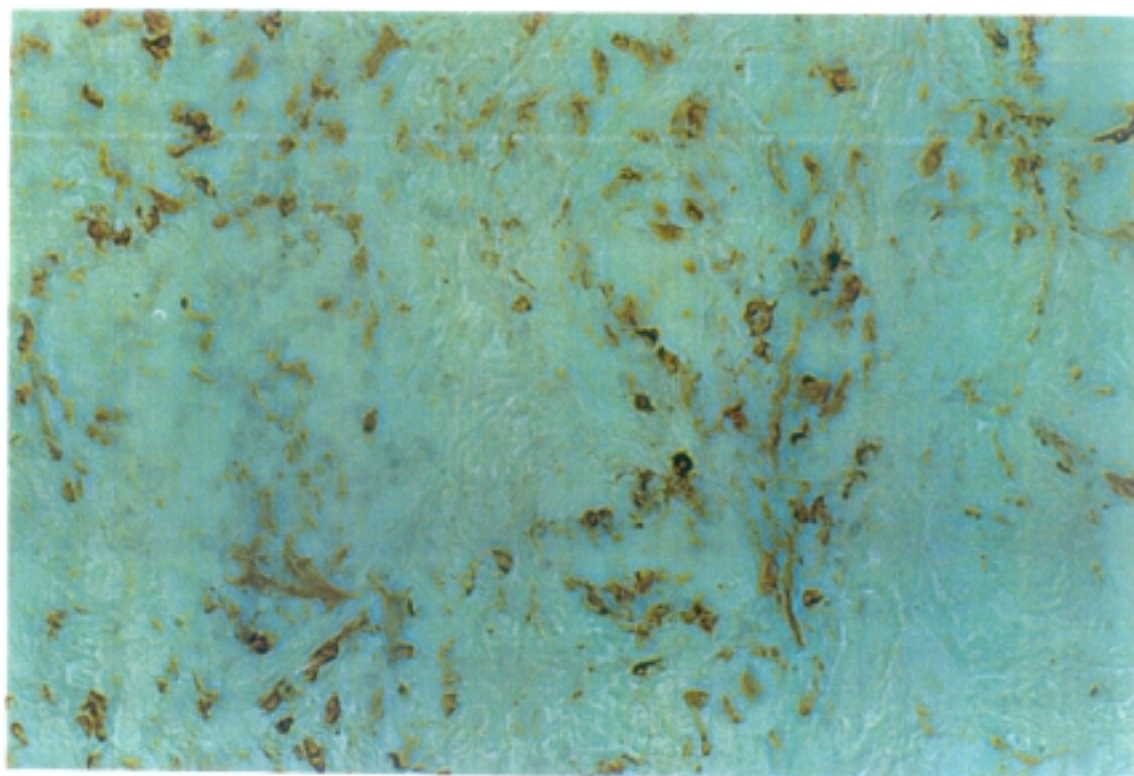


Foto 20. Periodontitis rápidamente progresiva pretratamiento, observándose macrófagos y linfocitos activados a nivel del corion.

(P. A. P. OKIa x 200)

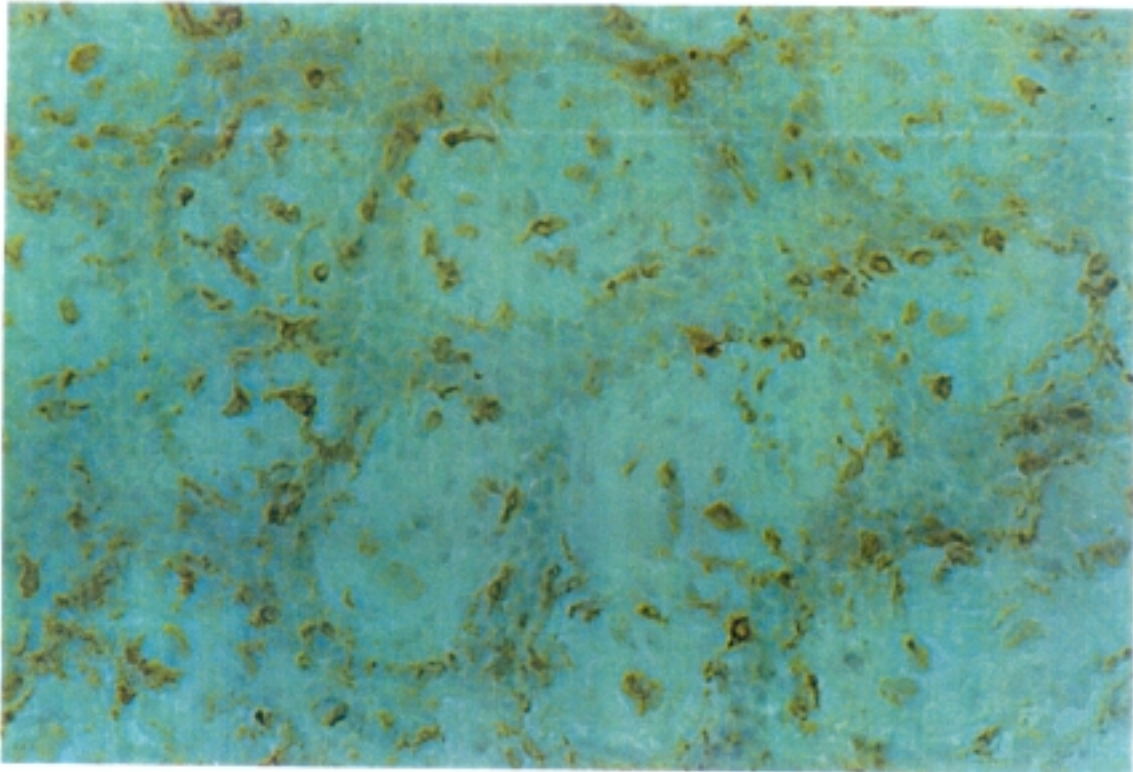


Foto 21. Periodontitis crónica del adulto pretratamiento. Macrófagos y linfocitos activados en corion. El corte es tangencial a las papilas coriónicas.

(P. A. P. OKIa x 230)

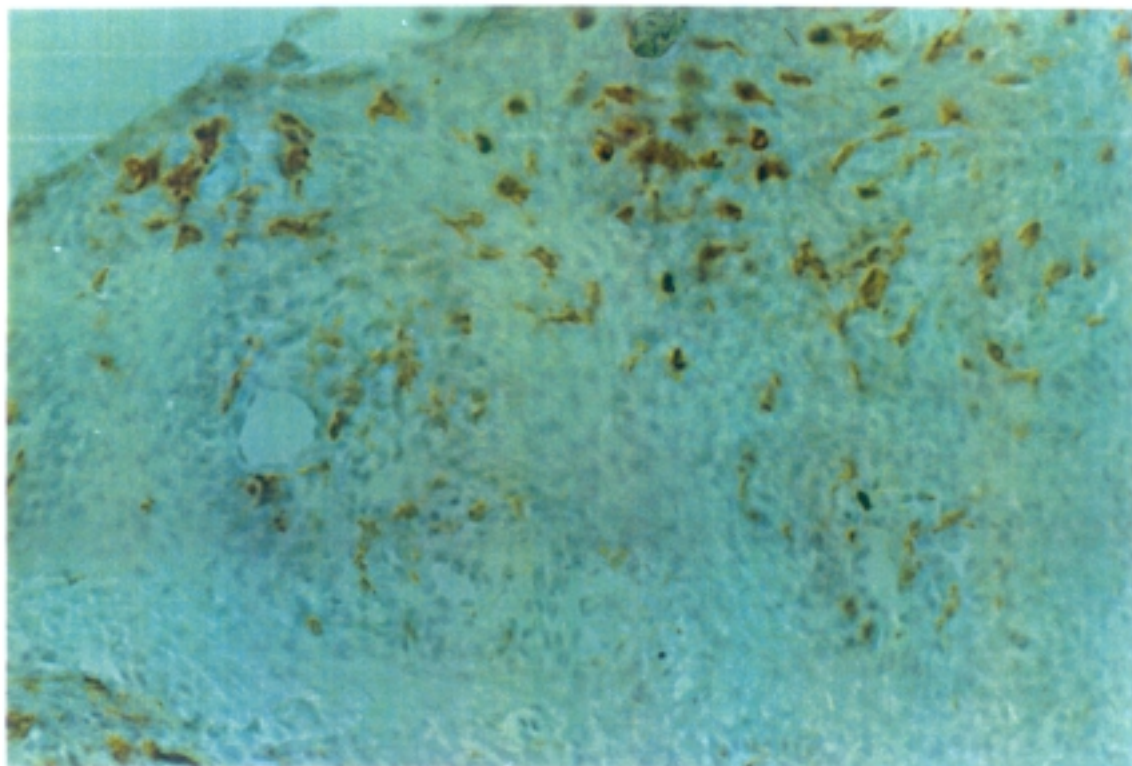


Foto 22. Periodontitis crónica del adulto pretratamiento. Linfocitos y macrófagos activados. Transmigración a través del epitelio de la bolsa.

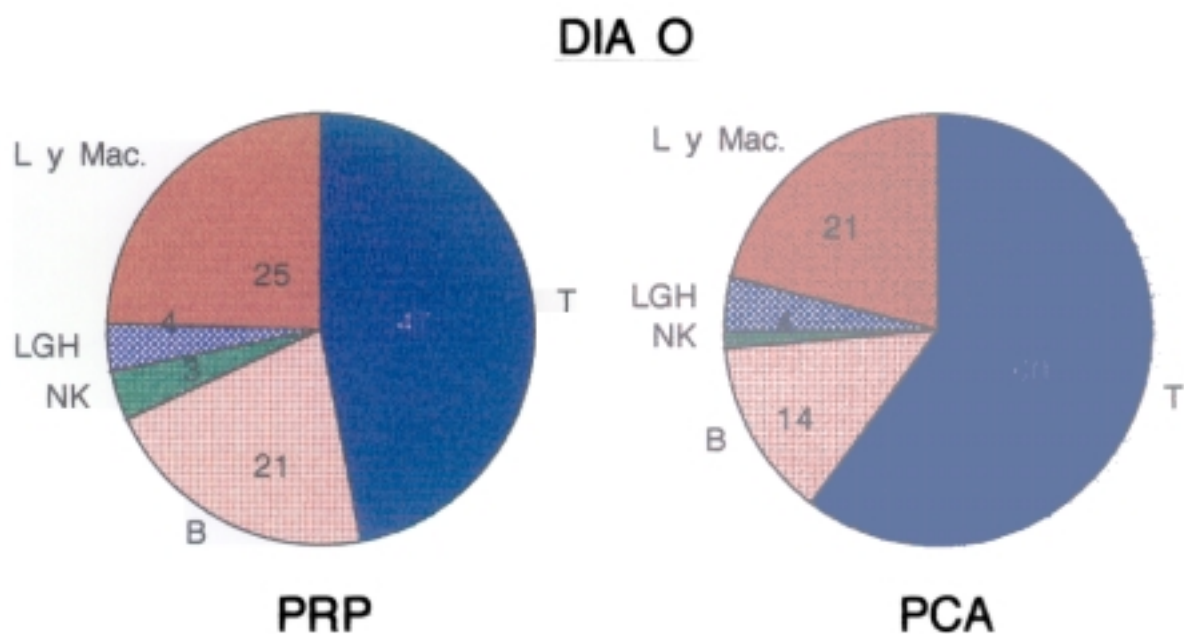
(P. A. P. OKIa x 200)

- 6) Distribución de frecuencias de las distintas estirpes celulares.
(Tablas 46, 47, 48, 49, 50 y 51; gráficas 42, 43, 44, 45, 46 y 47).

PRP	DIA O
T	47,03
B	21,13
NK	3,5
LGH	3,71
L y Mac.	24,61

PCA	DIA O
T	60,04
B	13,62
NK	1,15
LGH	3,94
L y Mac.	21,22

Tablas 46 y 47.



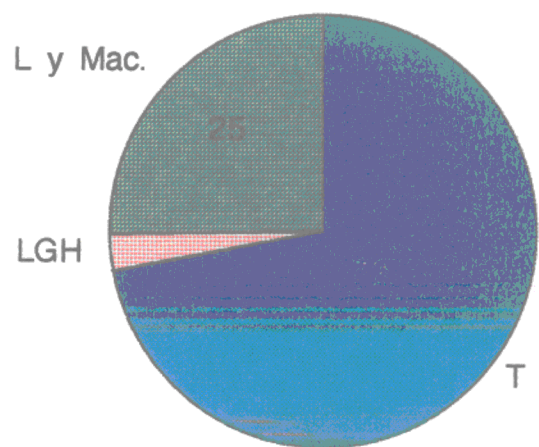
Gráficas 42 y 43.

PRP		3M
	T	71,8
	LGH	2,78
	L y Mac.	25,36

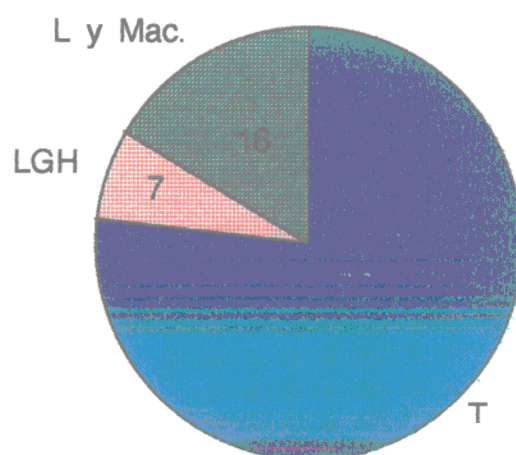
PCA		3M
	T	77,19
	LGH	6,91
	L y Mac.	16,46

Tablas 48 y 49.

3M



PRP



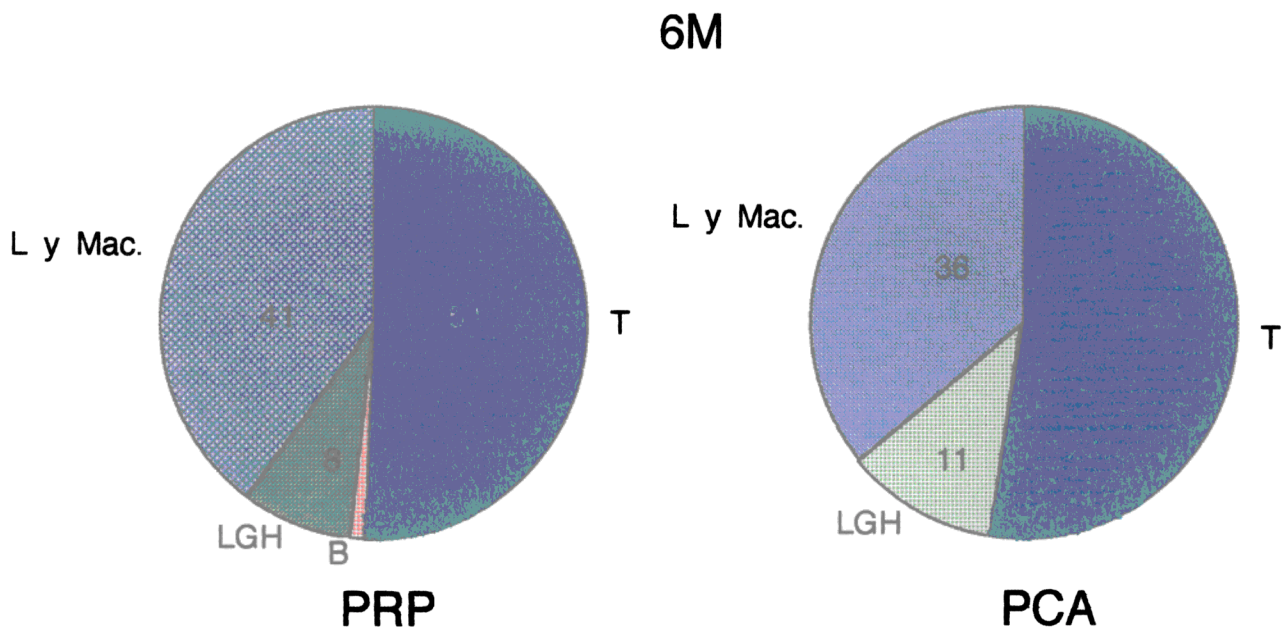
PCA

Gráficas 44 y 45.

PRP		6M
	T	50,64
	B	1,07
	LGH	8,18
	L y Mac.	40,08

PCA		6M
	T	52,53
	LGH	11,27
	L y Mac.	36,18

Tablas 50 y 51.



Gráficas 46 y 47.

5. DISCUSION.

5.1. PARAMETROS CLINICOS.

Actualmente hay suficiente evidencia científica que sugiere que la periodontitis marginal en humanos, puede progresar en forma de brotes, más que de forma lenta y continua. Parece que las zonas en actividad, no sólo se caracterizan por una rápida pérdida de inserción, cambios radiográficos en la densidad ósea y cambios en los componentes del fluido crevicular, sino que además por cambios histológicos específicos. Estos cambios incluyen, aumento significativo en el número de células inflamatorias en el tejido blando supracrestal, y cambios significativos en la distribución de frecuencias de las distintas poblaciones de células inflamatorias.

El desarrollo obtenido por las ciencias básicas en los últimos años, sobre todo por la inmunobiología, ha supuesto poder observar bajo un prisma nuevo, procesos como la periodontitis, cuya etiopatogenia parecía suficientemente aclarada. Los nuevos datos hallados hacen que sea aceptado el hecho de que en este tipo de procesos influyen de manera decisiva otros parámetros hasta ahora insospechados.

Este concepto nos coloca en una posición clave para el estudio de esos factores que intervienen en la etiopatogenia y que además son capaces de condicionar el curso de la enfermedad. El conocimiento de la actuación del sistema inmune, no sólo como defensa frente a los agentes irritantes-infecciosos, sino como responsable de parte de las lesiones que ocurren en la periodontitis, abre un interrogante sobre las causas de esa desafortunada actuación.

Nuestro trabajo pretende establecer un mapa citológico que pueda definir dos tipos de periodontitis de progresión diferente, periodontitis rápidamente progresiva y periodontitis crónica del adulto, y cómo este mapa evoluciona con el tratamiento en ambos grupos. Por otro lado evaluamos también la evolución clínica, estableciendo una posible correlación clínico-histológica.

Los resultados de este estudio indican que después del tratamiento y desde un punto de vista clínico, ambos grupos evolucionan de forma similar tanto en las zonas enfermas como en las sanas.

Respecto a la presencia/ausencia de placa supragingival los datos son poco valorables. Lo único que nos permiten es observar el nivel de higiene que tienen los distintos pacientes en un momento dado. Así, podría parecer contradictorio que en el día 0 las localizaciones con mayor porcentaje de placa sean las sanas, y mayor en la periodontitis crónica del adulto que en la rápidamente progresiva. En ambos grupos se produce una disminución en dicho porcentaje tras el tratamiento.

En cuanto al sangrado, la respuesta en ambos grupos y en las zonas definidas como enfermas es muy parecida, obteniendo un menor porcentaje de superficies con sangrado después de realizar el tratamiento, para luego ir aumentando paulatinamente a los seis y nueve meses, hasta alcanzar niveles similares pretratamiento sobre todo en la periodontitis rápidamente progresiva.

Los resultados referentes a profundidad de sondaje y nivel de inserción son más concluyentes y concuerdan con lo descrito por otros autores. En ambos grupos partiendo (en las zonas enfermas) de una profundidad de sondaje media de $5,98 \pm 1,37$ para la PRP y de $5,53 \pm 1,64$ para la PCA (sin diferencias significativas entre ambos grupos), los resultados son muy similares para ambos tras la fase higiénica, con una reducción estadísticamente significativa que se mantuvo en el transcurso del estudio. Si bien se produce una ligera recidiva sobre todo en la periodontitis rápidamente progresiva en el sexto y noveno mes, coincidiendo con el aumento del sangrado al sondaje. La respuesta en el nivel de inserción fue muy similar a la de la profundidad de sondaje, tanto con la medición manual como con la sonda Florida®. En ambos grupos se produjo una ganancia significativa de inserción clínica después del tratamiento, y esta mejora en la inserción se mantuvo durante todo el estudio. Aunque si observamos la distribución de frecuencias del cambio en el nivel de inserción, vemos que en un principio más del 15% de las superficies en la PRP pierden inserción entre el día 0 y el primer mantenimiento (a los tres meses), lo que podría explicarse de dos maneras. Por un lado que en la periodontitis rápidamente progresiva el tratamiento en su fase básica no es suficiente en todas las superficies afectas, necesitando realizar tratamiento quirúrgico inmediato, o bien, que la cicatrización en estos pacientes es más lenta, (teniendo que hacer mantenimientos con mayor frecuencia) ya que en este mismo grupo observamos que en la distribución de frecuencias en el cambio de nivel de inserción entre seis y nueve meses se produce ganancia del mismo en un 20% de las superficies, lo cual podría compensar el 16,6% de pérdida de inserción inmediato al tratamiento básico. Para resolver esta duda se necesitarían más estudios longitudinales y quizá una muestra más amplia, que

nos indicase como es la respuesta inmediata al tratamiento en pacientes con periodontitis rápidamente progresiva, y cada cuanto tiempo deberían hacerse los mantenimientos y si realmente esto difiere de la periodontitis crónica del adulto.

5.2. PARAMETROS HISTOLOGICOS.

5.2.1. Técnicas convencionales.

La inmunohistología en relación con la regulación inmune local en periodontitis, nos indica que los antígenos derivados de la placa bacteriana pueden acceder a los tejidos periodontales durante la enfermedad y producirse una interacción entre estos y los receptores de la superficie de células presentes en tejido gingival, como macrófagos y células de Langerhans, que expresan antígenos MHC de clase II, requeridos para la estimulación de linfocitos T.

Siguiendo el estudio experimental de Løe y col. (23), donde se establece una importante relación entre acúmulo de placa e inflamación gingival, los cambios histopatológicos asociados con gingivitis y periodontitis fueron tema de numerosas investigaciones realizadas en la década de los 70. Page y Schroeder (21,22,24,25,32) resumieron los acontecimientos histopatológicos de la enfermedad periodontal en las cuatro etapas definidas como inicial, temprana, establecida y avanzada. Como parece ocurrir en periodontitis, la histopatología de la gingivitis establecida en el adulto podría exhibir un predominio de células plasmáticas. Sin embargo también existen numerosas comunicaciones que sugieren que la gingivitis está dominada por linfocitos no portadores de inmunoglobulinas (183,184). Los tipos celulares predominantes en encía inflamada en niños son linfocitos T (127,185,186) y raramente los niños sanos desarrollan periodontitis. Tales circunstancias proporcionan algún crédito a la hipótesis de que el acontecimiento crítico en la progresión de la periodontitis podría ser la conversión de una lesión predominantemente de células T a otra de células B. Esta hipótesis tendría más consistencia si pudiera demostrarse que la conversión se asocia con una evidenciable pérdida activa de inserción periodontal en ese momento, más que con posibles signos clínicos asociados, como el sangrado gingival, como generalmente ha sido el caso hasta ahora. Se ha demostrado que tales signos tienen escaso valor predictivo de episodios de pérdida de inserción. Más recientemente en un estudio longitudinal experimental en adultos, consistente en el acúmulo de placa (37) se demostró que durante un período de seis meses sin higiene oral se producía una lesión inflamatoria con predominio de granulocitos y linfocitos. Durante ese período la fracción del conectivo infiltrada con células plasmáticas aumentaba paulatinamente, mientras se producía un significativo descenso en el número de fibroblastos y en el volumen de colágeno. Después de los seis meses sin higiene la fracción de células plasmáticas alcanzaba sólo el 10% del total del infiltrado celular, de tal manera que no representaba el grupo celular predominante en la

lesión.. Estos estudios indican que la cronología de los cambios histopatológicos asociados con el acúmulo de placa puede ser significativamente diferente en adultos, adolescentes y animales.

La presencia de similitudes histopatológicas en el infiltrado inflamatorio entre la lesión establecida estable y la lesión avanzada en la periodontitis, ha hecho que los investigadores busquen diferencias tanto cuantitativas como cualitativas involucradas en la determinación de una lesión en progresión. Al respecto los estudios más representativos son los realizados por Zappa (41-44) en los cuales y basados en los conceptos de progresión de la enfermedad de Goodson y col. (5), demuestran la existencia de un aumento del infiltrado inflamatorio en las zonas en actividad con respecto a las que no progresan. Un posterior análisis indicó un aumento significativo en el número y porcentaje de macrófagos, células plasmáticas, mastocitos y linfocitos. Además demostró la existencia de un significativo descenso en el número y porcentaje de fibroblastos en las zonas en progresión.

En el análisis histopatológico realizado en nuestro estudio con técnicas de hematoxilina - eosina y tricrómico de Masson, nos permite estudiar por un lado los cambios producidos a nivel epitelial y por otro los ocurridos en el conectivo.

En el epitelio oral pudimos demostrar la existencia de un espesor mayor en las zonas sanas que en las enfermas, fundamentado sobre todo por un mayor número de capas en el estrato espinoso. El espesor medio en estas zonas sanas oscilaba entre 135 y 185 μ , coincidiendo con la mayor queratinización y también granulosis. Respecto a las diferencias entre ambos grupos, tanto el espesor como la queratinización y la granulosis eran mayores en la periodontitis rápidamente progresiva que en la periodontitis crónica del adulto. Los cambios que se producían a lo largo del estudio carecían de significación estadística, pero el hecho de presentar una mayor queratinización y espesor en el epitelio las zonas sanas, puede indicar un fenómeno de defensa local frente a diferentes noxas agresivas.

Los resultados más importantes los encontramos a nivel del corion ya que nos permite estudiar la inflamación determinando el infiltrado inflamatorio, la degeneración del colágeno y la neoangiogénesis y su evolución a lo largo del estudio, aunque no permite distinguir las diferentes poblaciones celulares. Coincidiendo con los trabajos de Zappa encontramos un mayor infiltrado inflamatorio en las zonas enfermas que en las sanas, y ligeramente superior en la periodontitis crónica del adulto. El tejido conectivo subyacente al epitelio de la bolsa y el conectivo profundo presentaban un infiltrado inflamatorio más intenso. Subyacente al

epitelio oral también existía infiltrado pero en menor cantidad. En casi todas las muestras se podía observar la presencia de células plasmáticas. Con el tratamiento el infiltrado disminuyó en ambos grupos de forma importante y en el primer mantenimiento se alcanzaron los niveles más bajos. En el segundo mantenimiento se produce una pequeña recidiva que coincide con el aumento en el sangrado al sondaje y la recidiva en la profundidad de sondaje, aunque a unos niveles inferiores a los iniciales. La degeneración del colágeno sigue un curso muy parecido al del infiltrado inflamatorio y la neoangiogénesis se mantiene estable a lo largo del trabajo, observándose los cambios más importantes entre el sexto y noveno mes, coincidiendo con la disminución del infiltrado inflamatorio y la degeneración del colágeno.

5.2.2. Técnicas inmunohistoquímicas.

Linfocitos.

La evidencia de que la respuesta inmune sí sucede en la encía durante la periodontitis, considerada una razonable conclusión hace un cuarto de siglo, nos parece ahora incluso más concluyente. Los antígenos frente a los que existe una inmunidad específica, y los activadores policlonales, pueden disparar la respuesta inmune mediante la ocupación de apropiados receptores. También es evidente que bacterias orales pueden estimular directamente a los macrófagos para que produzcan una serie de citoquinas, además de aquellas liberadas durante el proceso inmunológico. Abundan amplificadores potenciales de las reacciones. Como ejemplo, los activadores policlonales, en la proporción relativa correcta con antígeno, pueden aumentar sustancialmente la magnitud de la respuesta secundaria frente a dicho antígeno, y el lipopolisacárido de bacterias orales Gram negativas pueden aumentar sustancialmente la liberación de PGE2 de células activadas por INF-gamma. Una vez producida la ocupación de receptores apropiados de células T, células B y / o macrófagos gingivales, es fácil prever una cascada de acontecimientos que incluyen alguno o todos los potenciadores de la respuesta inmune, los efectos pro-inflamatorios y de destrucción tisular de las citoquinas y otras sustancias bioactivas que estas inducen.

En el esquema de la respuesta inmune, tanto humoral como celular, frente a un epitopo de la placa bacteriana, el papel de los linfocitos T es importante como células reguladoras. La interleukina II producida por linfocitos T, tras la presentación del antígeno por parte de los macrófagos / células presentadoras, va a intervenir en la diferenciación y estimulación de clones celulares B productores de anticuerpos y en la capacidad citopática por

parte de los linfocitos T citotóxicos. De igual manera también va a influir en la capacidad de actuación de las células Natural-Killer, cuya actuación ha sido evidenciada en ciertos tipos de periodontitis, así como en la capacidad fagocitaria de los macrófagos.

Es verdad que en periodontitis, aunque no sean mayoría, las células T están bien representadas, sobre todo inmediatamente subyacentes al epitelio de la bolsa (187). Los resultados del trabajo de Celenligil y col.(187) indican que las células inmunorreguladoras en estos tejidos enfermos, con infiltrados, no sólo se componen de células B como se pensaba anteriormente, sino que puede haber cantidades importantes de células T. Por otro lado el que los infiltrados de células T fuesen más densos a nivel del epitelio de la bolsa (zona más expuesta a la agresión bacteriana) puede tener importancia desde el punto de vista inmunológico. Por lo tanto hay que indicar que en la periodontitis se produce una participación de diferentes tipos celulares, T, B, macrófagos y de linfokinas y que de su interacción que va a dar lugar a la inmunorregulación se va a producir la destrucción tisular.

Los resultados de nuestro trabajo demuestran un predominio de células T en el día 0 del estudio, tanto en periodontitis rápidamente progresiva como en periodontitis crónica del adulto, resultados que concuerdan con los trabajos de Celenligil. El infiltrado de estas células era ligeramente más intenso en la periodontitis rápidamente progresiva. Con el tratamiento se produce una *disminución importante en ambos grupos siendo estadísticamente significativa* en la periodontitis crónica del adulto. Pero si nos fijamos en la distribución de frecuencias de las distintas estirpes celulares, observamos que las cifras relativas eran muy similares en los dos grupos respecto a las células T, produciéndose un aumento en la primera fase de mantenimiento (72% en PRP y 77% en PCA) con respecto al día 0 del estudio (47% y 60% respectivamente). En la segunda fase de mantenimiento (6M) se produce una ligera recidiva en el número de células T en la periodontitis crónica del adulto, que se puede correlacionar con aumento en el sangrado al sondaje, aumento del infiltrado inflamatorio y ligera recidiva en la profundidad de sondaje. Sin embargo en la distribución de frecuencias se produce un descenso entre el tercero y sexto mes, que coincide con un aumento en las proporciones de células de Langerhans y macrófagos - linfocitos activados, lo cual iría en favor de una posible agudización del proceso inflamatorio en ambos tipos de periodontitis. Si analizamos la distribución de las células T en las diferentes localizaciones estudiadas en las muestras, observaremos que a nivel epitelial el comportamiento es similar en ambos tipos de periodontitis, con un mayor predominio de células en el epitelio de la bolsa, resultados que concuerdan con los Celenligil y col. Con el tratamiento a parte de producirse un descenso en valores absolutos de linfocitos T, estos invierten su localización a nivel epitelial, presentando

en ambos grupos preferencia por el epitelio oral. Respecto al tejido conectivo los resultados son muy similares, si bien cabe mencionar que en la periodontitis rápidamente progresiva el infiltrado se localiza tanto en el corion subyacente al epitelio de la bolsa como en el corion profundo. Y en la periodontitis crónica del adulto se sitúa principalmente en el corion profundo. Con el tratamiento la distribución se centra sobre todo en conectivo superficial y profundo en ambos grupos. La recidiva que se produce en el número de células T en la periodontitis crónica del adulto en el sexto mes se caracteriza por un predominio de células en el corion superficial.

Los trabajos realizados por Meng y Zheng (188) demuestran que tanto en salud como en enfermedad el número de células T es mayor en el epitelio de la bolsa que en el oral. Esto sugiere que la presencia de estas células T puede estar relacionado con la defensa local de los tejidos periodontales. Pueden ayudar a la diferenciación y proliferación de linfocitos B que sintetizan anticuerpos específicos contra bacterias, o intervienen en la producción de linfoquinas en las reacciones inmunes mediadas por células. También sugiere que las células T participan en los procesos destructivos en la enfermedad periodontal ya que su número aumenta con el aumento del infiltrado en el tejido conectivo y de acuerdo a los trabajos de Zappa (41-44) este infiltrado se incrementa de forma significativa en las zonas destructivas. Por otro lado en la periodontitis juvenil y crónica del adulto a medida que disminuyen las células T aumentan las B.

Es de todos conocido que las células T4 comprenden el 50-60% de las células T en sangre periférica. Actúan como cooperadoras de la diferenciación de células B y producción de inmunoglobulinas. Las T8, comprenden el 30-40% de las células T en sangre periférica, actuando como supresoras de la diferenciación de células B y de la producción de inmunoglobulinas. También pueden efectuar acciones como células citotóxicas. Se piensa que las interacciones T-T son importantes en la inmunorregulación de tanto la diferenciación de células T como de B. Una relación T4 / T8 de aproximadamente 2,0 es una indicación de una relación equilibrada en el sistema inmune. Se ha descrito que las enfermedades autoinmunes (artritis reumatoide, lupus sistémico eritematoso, síndrome de Sjogren) presentan una tasa T4 / T8 anormalmente aumentada. Stashenko y col. (189) observan que pacientes con tasas de T4 / T8 bajas tienen significativamente mayor enrojecimiento y sangrado al sondaje que aquellos con una relación de T4 / T8 altas. Kinane y col.(190) demuestran en un estudio realizado en sangre periférica de pacientes con periodontitis de comienzo temprano la existencia de una tasa T4 / T8 sistémica disminuida de forma significativa. Sin embargo el trabajo de Celenligil y col. (191) realizado en el mismo grupo de

pacientes afectados con periodontitis de comienzo temprano, no solo no encuentra una tasa T4 / T8 disminuida sino que los valores sistémicos de los linfocitos en números absolutos es normal (1000-2500 / mm³), y las diferentes subpoblaciones (T4, T8 y B) presentan unas cifras normales. Además en este mismo estudio los valores de células HLA-DR (+) y IL-2R (+) indicando la posible activación celular frente a la exposición antigénica, no sufrieron modificación alguna respecto a la normalidad, indicando por todo ello la no activación celular a nivel sistémico. Por lo que este autor concluye que es muy probable que la inmunorregulación de estas enfermedades se produzca más bien a nivel local que a nivel sistémico. En otro estudio de Katz y col. (192) realizado en 10 pacientes con periodontitis rápidamente progresiva, observa que la relación T4 / T8 varía de unos pacientes a otros, presentando 4 de ellos una tasa por encima de lo normal y el resto por debajo de lo normal. Por lo que vemos que no está del todo resuelta la duda de la importancia de la tasa de T4 / T8 sistémica, sobre los tejidos periodontales. Por otro lado el significado del equilibrio entre T cooperadores y supresores a nivel local tisular en el curso de la enfermedad periodontal tampoco está del todo claro.

Actualmente el consenso (47) respecto a la importancia sobre la inmunorregulación en la enfermedad periodontal de los valores de T4 y T8, es que a nivel local encontramos unas cifras de T4 / T8 en salud y gingivitis, generalmente similares a las de sangre periférica. Pero en localizaciones con periodontitis encontramos unos valores disminuidos en relación a las cifras en sangre periférica y localizaciones con gingivitis en los mismos individuos (128,131,193).

Los resultados de nuestro trabajo, respecto a las cifras de T4 y T8 a nivel local, están más de acuerdo con los resultados obtenidos por Meng y Zheng (188) en donde en los grupos enfermos estos autores encontraron una gran variación individual, una vez una relación T4 / T8 alta y otras baja. Generalmente las relaciones altas (>3) se encontraban en tejidos muy infiltrados, mientras que las relaciones bajas se encontraban tanto en tejidos muy infiltrados como menos infiltrados. En nuestra investigación obtuvimos una tasa de T4 / T8 mayor cuanto mayor era el infiltrado inflamatorio. Así los valores en el día 0 eran de 2,99 en la periodontitis rápidamente progresiva y de 2,36 para la periodontitis crónica del adulto. Una vez realizado el tratamiento en la periodontitis rápidamente progresiva la tasa disminuía hasta 0,95. Por lo que a nivel local nosotros no encontramos cifras de T4 / T8 por debajo de lo normal en pacientes afectados de periodontitis.

Si analizamos la distribución de estas células (T4 y T8) en las diferentes muestras estudiadas, veremos que los linfocitos T4 tienen una localización muy parecida en los dos tipos de periodontitis. Con un mayor infiltrado en el epitelio de la bolsa y en el conectivo, infiltración más intensa tanto en conectivo profundo como en el subyacente al epitelio de la bolsa. Sin embargo respecto a T8 los resultados son totalmente diferentes para una y otra periodontitis. Así en la periodontitis rápidamente progresiva el epitelio más infiltrado era el epitelio oral, y en el conectivo encontramos más afectado el conectivo profundo y el subyacente al epitelio de la bolsa. Sin embargo en la periodontitis crónica del adulto el epitelio con un infiltrado más intenso era el epitelio de la bolsa, y respecto al tejido conectivo, el conectivo superficial y después el subyacente al epitelio de la bolsa.

Por lo que se refiere a los linfocitos B, su presencia nunca fue superior a los T, con una mayor intensidad en la periodontitis rápidamente progresiva. En su distribución por localizaciones, no encontramos diferencias entre ambos grupos, con una mayor presencia en el epitelio de la bolsa, y en el conectivo subyacente al epitelio de la bolsa. Tras el tratamiento los linfocitos B desaparecían, por lo que si nos fijamos en los valores relativos de las células T y B encontramos que antes del tratamiento había en la periodontitis rápidamente progresiva un 47% y 21% para T y B respectivamente y en la periodontitis crónica del adulto 60% y 14%. Después del tratamiento los linfocitos B desaparecen aumentando las cifras relativas de linfocitos T (72% y 78%).

Células Natural-Killer. (N-K).

Hay datos suficientes que demuestran que estas células N-K "in vitro" tienen actividad citotóxica. Se ha sugerido también que "in vivo" pueden tener una función defensiva antimicrobiana por acción directa extracelular. Respecto a esto se demostró una linfokina producida por las células N-K capaz de aumentar la acción bactericida de los monocitos. Se han definido tres tipos diferentes de células N-K, aunque se cree que corresponden a diferentes estadios de maduración. Diversos estudios han demostrado actividad citotóxica linfocitaria en la enfermedad periodontal, tanto en humanos como en animales de laboratorio. Cobb y col. (194) encontraron en sus estudios una cantidad de células N-K que varía de 2 a 12 células. Generalmente subyacentes a la lámina basal con localizaciones perivasculares. Los valores medios revelan unos resultados de dos veces mayores en gingivitis y / o periodontitis respecto a salud. Sin embargo estos resultados analizándolos en el cómputo total celular son inversos, dando en salud unas cifras del 19%,

6,6% en gingivitis y 7% en periodontitis. A la vista de las diversas funciones que tienen las células N-K, el autor indica que las cifras son relativamente bajas respecto a lo encontrado por otros autores (195,196). En el estudio de Wynne y col. se demuestra un aumento en el número de células N-K en gingivitis y periodontitis, comparado con sujetos control sanos. Además establecen una relación directa entre la presencia de células N-K y disminución de los niveles de linfocitos T, y / o aumento de los niveles de linfocitos B. Lógicamente es de esperar que si las células N-K participan en algún nivel en la inflamación de la enfermedad periodontal, a medida que esta se hace más severa es probable que este tipo celular aumente. Se sabe que los linfocitos con actividad N-K comprenden del 3-10% del total de los linfocitos en sangre periférica en adultos jóvenes y del 7-22% en los de edad más avanzada.(197).

Los resultados de nuestro trabajo indican la presencia de células N-K, en mayor número en la periodontitis rápidamente progresiva y tanto en un tipo de periodontitis como en el otro desaparecen con el tratamiento. La localización en un grupo y otro es diferente. Así en la periodontitis rápidamente progresiva se sitúan preferentemente en el epitelio de la bolsa y en el conectivo profundo y adyacente al epitelio de la bolsa. Sin embargo en la periodontitis crónica del adulto no encontramos células a nivel epitelial y en el conectivo situadas en el conectivo superficial. En cifras relativas el valor es de un 3% en la periodontitis rápidamente progresiva y de un 1% en la periodontitis crónica del adulto. En valores absolutos entre 2 a 4 células. Cobb y col. (194) explican la baja presencia de las células N-K, del siguiente modo:

- Las células N-K no participan en procesos crónicos, solo al comienzo de la infección.

- En procesos crónicos estas células estarían relacionadas con la regulación de las células T y B, para lo que se necesitaría menor cantidad.

- Estas células N-K estarían sujetas al control regulador tanto activador como inhibidor. Así los procesos que ocurren en la inmunorregulación ante la presencia de un antígeno alteran la función de las células N-K (pero no por el antígeno, sino por la propia inmunorregulación). La activación de las N-K depende de la IL-1, IL-2 y del interferón. Su aumento puede ser producido también por bacterias Gram negativas (lipopolisacáridos). Por otro lado su actividad puede ser inhibida por complejos inmunes y la producción de PGE. Así la PGE puede inhibir la IL-2 y disminuir la actividad de las N-K. De esta forma la carencia de células N-K puede ser el resultado de la inhibición producida por la IL-Interferón-prostaglandina.

Células de Langerhans.

Los estudios realizados por Newcomb y col. (198), demuestran una relación directa entre acúmulo de placa y un aumento en el número de células de Langerhans en el epitelio oral. De esta manera se podría especular diciendo que la distribución periférica de los linfocitos T, puede estar relacionada con la presentación de antígeno mediante las células de Langerhans y la estimulación de linfocitos T. Los resultados de nuestro trabajo demuestran que en el día 0 existe un mayor número de células de Langerhans en la periodontitis rápidamente progresiva que en la periodontitis crónica del adulto. Después del tratamiento disminuyen en ambos grupos, para aumentar en el sexto mes del estudio ligeramente en la periodontitis crónica del adulto, y de forma importante en la periodontitis rápidamente progresiva. Su distribución fue diferente en los dos grupos. Así en la periodontitis rápidamente progresiva el mayor número de células se encontraba (antes del tratamiento) en el epitelio de la bolsa, para después del tratamiento disminuir de forma importante en ambos epitelios igualándose la cifra entre ambos, que se mantendría por el resto del estudio. En la periodontitis crónica del adulto, antes del tratamiento la mayor cantidad de células de Langerhans se encuentra en el epitelio oral. Después del tratamiento disminuyen de forma importante, llegando a desaparecer del epitelio de la bolsa; pero al sexto mes volvemos a encontrar células en el epitelio de la bolsa incluso por encima de los valores iniciales. En la distribución de frecuencias las cifras son iguales para ambos grupos de periodontitis antes y al final del tratamiento, pero con la diferencia de que en el día 0 los valores eran del 4% para los dos, sin embargo al final eran del 8 y 11% para la periodontitis rápidamente progresiva y crónica del adulto respectivamente.

Macrófagos y linfocitos activados.

En el estudio de Celenligil y col. (191) en sangre periférica de pacientes con periodontitis de comienzo temprano, demuestra la existencia de unas cifras séricas normales para los linfocitos T, T4, T8 y B, además utiliza anticuerpos que reaccionan con IL-2R y HLA-DR (+), que son dos marcadores que nos indican actividad celular por exposición frente a antígenos (199,200,201), observando unas cifras normales para los dos, con lo cual concluyen en que no hay actividad celular a nivel sistémico. Otros autores (202) obtienen resultados parecidos utilizando en este caso el anticuerpo OK-Ia, que es también un marcador para células activadas (macrófagos y linfocitos). Sin embargo en el estudio de este mismo autor (187) realizado en muestras de encía, encuentra que muchos de los linfocitos T estaban activados debido a que la expresión HLA-DR estaba aumentada. En nuestra investigación

hemos utilizado el OK-Ia, obteniendo como resultados más destacables, una mayor cantidad de células activadas en la periodontitis rápidamente progresiva, con un descenso estadísticamente significativo para ambos grupos tras el tratamiento, produciéndose una recidiva estadísticamente significativa en el grupo de la periodontitis crónica del adulto entre el sexto y noveno mes. Recidiva que se puede correlacionar con un importante aumento en el número de células de Langerhans, situadas además en el epitelio de la bolsa, número total de linfocitos T, aunque en este caso situados a nivel superficial, ligero aumento en la profundidad de sondaje, aumento leve en el sangrado y mayor infiltrado inflamatorio. En la distribución de frecuencias de las diferentes estirpes celulares, se observa un claro aumento en las cifras desde el día 0 y tercer mes, hasta el sexto mes del estudio, en donde se pasa de un promedio de un 20-25% a un 41% en la periodontitis rápidamente progresiva y 36% en la periodontitis crónica del adulto.

Todo esto nos da idea de que la enfermedad periodontal es un fenómeno en el que intervienen por un lado una serie de factores agresivos (microorganismos) y por otro una serie de células (T, T4, T8, B, N-K y Células de Langerhans) y una gran cantidad de mediadores químicos, en un terreno localizado a nivel periodontal, sin producirse alteraciones inmunológicas importantes a nivel sistémico. Como conclusión más importante de este trabajo nos queda decir en vista de los resultados obtenidos y de la literatura revisada, y que dado que la enfermedad periodontal es un proceso inflamatorio que cursa fundamentalmente con una pérdida de la inserción del diente que evoluciona a brotes, nuestra idea es que las células clave en todo este proceso son los linfocitos T, fundamentalmente los linfocitos T4, y que la relación T4/T8 está sometida a unas alteraciones (aunque el consenso actual habla de un descenso de la misma en periodontitis) que van a depender del momento exacto en que se produzca la toma de biopsia, ya que debemos entender a la enfermedad periodontal con una evolución en fases de actividad (pérdida de inserción y destrucción del conectivo del ligamento periodontal) y de reposo, con características lógicamente diferentes tanto a nivel clínico, como histológico y posiblemente también microbiológico. Por eso entendemos que en la literatura podemos encontrar resultados a veces tan diferentes entre los distintos estudios, ya que resulta en la actualidad totalmente imposible desde un punto de vista conceptual poder definir el momento exacto de actividad. Pero si entendemos perfectamente el fenómeno de la inmunorregulación, es fácil deducir que ante la presencia de un antígeno que ha penetrado en nuestro organismo (periodonto en este caso) por fracaso de los mecanismos de defensa innatos y locales (epitelio intacto, flujo y composición salival adecuadas, producción local de anticuerpos, flora beneficiosa, trans migración de polimorfonucleares, etc.) que son en principio los más importantes, se va a producir un

mecanismo lógico y secuencial de defensa frente a este antígeno poniéndose en marcha todos los fenómenos de la inmunidad adaptativa (humorales y celulares) que actúan coordinadamente, para intentar entre todos eliminar la noxa agresiva, pero lo que va a ocurrir es que no sólo se va a ver afectado nuestro organismo (periodonto) por la acción directa de la noxa, sino que también por el propio mecanismo de defensa inmunológico. Por tanto no es lo mismo hacer una toma de biopsia en un momento en que los fenómenos de la inmunidad adaptativa no van a estar actuando (fase de reposo a nivel periodontal), que cuando se pone en marcha (fase de actividad). De tal forma que si la biopsia se realiza en la fase de reposo (no pérdida de inserción lo que implica que el paciente no necesitaría tratamiento, ya que su inmunidad innata-defensas locales lo hace pro nosotros) encontraríamos unas tasas de T4 / T8 normales como es lógico pensar, independientemente del tipo de periodontitis que tuviésemos delante (juvenil, del adulto.etc.) ya que se comportaría desde un punto de vista real (no pérdida de inserción) como un paciente con su periodonto totalmente sano. Ahora bien, si da la casualidad que la toma de biopsia se realiza en el momento en que la inmunidad adaptativa entra en acción porque la noxa le ganó la batalla a las defensas locales, entendemos entonces que inmediatamente se dispara el proceso inmunológico celular y humoral (los dos perfectamente coordinados) y entonces los resultado de nuestras biopsias serían totalmente diferentes que en el caso anterior, y lógicamente debido a que las células presentadoras de antígeno se ponen en marcha y activan a los linfocitos T4 para que se multipliquen y liberen IL-2 para que continúe el proceso, encontraríamos unos niveles de T4 elevados, por lo que la relación T4 / T8 en estas biosias estaría elevada, independientemente también del tipo de periodontitis que tuviésemos delante, ya que estamos hablando de un fenómeno que es común para todas (inmunidad adaptativa). Pero si la biopsia la realizamos en el momento en que la supresión domina la batalla porque ya se está eliminando por parte del organismo (periodonto) la noxa agresiva, es fácil comprender que en ese mismo instante la tasa de T4 / T8 esté por debajo de los niveles normales y lo mismo independientemente del tipo de periodontitis con el que nos encontremos. Y por último, una vez que ya pasó la fase de actividad en ese paciente, esto implica que durante ese momento ya pasado el paciente perdió inserción conectiva en el diente, por un lado por la agresión de la noxa y sus toxinas, y por otro por la acción indirecta del sistema inmunológico, si la toma de biopsia la hacemos en ese instante que ya todo volvió a la normalidad en el organismo (entorno periodontal) los resultados serán similares a los obtenidos en el primer caso, con una relación T4 / T8 normal.

Por lo tanto si todo ocurriese de la forma descrita sería fácil deducir que la célula que nos podría indicar actividad, es decir exactamente el momento en el que se va a producir el fenómeno de pérdida de inserción, sería el aumento en los niveles de T4, con una tasa de T4 /

T8 elevada, pero ese momento debe ser tan corto que es lógico pensar que los datos que se ofrecen en la mayoría de los estudios, y así está consensuado, de una tasa de T4 / T8 disminuida en periodontitis, puede ser debida a que investigando dicha relación en un número importante de individuos afectados de periodontitis de comienzo temprano (con muchas localizaciones perdiendo inserción y con mayor frecuencia, que en las periodontitis del adulto) el valor medio nos da el momento en el que la supresión (de mayor duración que la destrucción propiamente dicha) domine la situación y por tanto la relación T4 / T8 esté disminuida.

Por ello las defensas locales son tan importantes y en los pacientes con problemas en la primera línea de defensa (polimorfonucleares) encontramos los procesos periodontales más avanzados (aquí sí que la literatura es clara y unánime), ya que la inmunidad adaptativa entra en acción mayor número de veces porque la noxa invadió (periodonto) en más ocasiones, y la destrucción directa e indirecta ocurrió también con más frecuencia.

Otro claro ejemplo es lo que ocurre con los pacientes HIV +. En este caso lo que pasa es todo lo contrario, es decir, presentan un problema sistémico de base fundamentado en una deplección de los linfocitos T4. Por lo tanto es lógico pensar que tanto a nivel sistémico, como local presenten una tasa de T4 / T8 disminuida y a veces cercana a 0, favoreciendo la acción directa de las noxas, que no encuentran a la inmunidad adaptativa porque al individuo le falla, para frenarla. Por eso estos pacientes cuando tienen alteraciones a nivel de las defensas locales sea la zona del organismo que sea, se van a producir infecciones importantes por gérmenes oportunistas, ya que los T4 no entran en acción y no se desencadena el proceso inmunológico.

Por tanto y después de todo lo expuesto podríamos resumir que la enfermedad periodontal en individuos sistémicamente sanos es un proceso infeccioso-inflamatorio, en donde en primer lugar las defensas locales son el escudo más importante que tenemos para defendernos de las bacterias orales (se produciría gingivitis) y cuando estas fallan se produce la invasión al periodonto de las bacterias propiamente dichas o de sus toxinas u otras sustancias, dando lugar a la entrada en acción de la inmunidad adaptativa desencadenada por las células T4, y estas activando a todas las demás (T8, B, N-K, Macrófagos, INF, etc.) terminando el proceso con la pérdida de inserción para el paciente, producido principalmente por la acción indirecta del sistema inmune, y la curación con el consiguiente resultado para el paciente de presentar un periodonto reducido, y la consiguiente normalización a nivel celular.

6. CONCLUSIONES.

- 1.- La respuesta clínica al tratamiento en términos de sangrado al sondaje, profundidad de sondaje y nivel de inserción fue similar en ambos grupos, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre ambas.
- 2.- En las dos periodontitis se produce una ligera tendencia a la recidiva en el sangrado y profundidad de sondaje en el segundo y tercer mantenimientos, aunque sin significación estadística.
- 3.- La ganancia de inserción clínica fue similar en ambos grupos y se mantuvo estable a lo largo de todo el estudio.
- 4.- La periodontitis rápidamente progresiva y crónica del adulto presentan patrones histológicos similares, si bien se pueden apreciar ligeras diferencias en el epitelio y tejido conectivo.
- 5.- A nivel de epitelio oral apreciamos un mayor espesor, queratinización y granulosis en la periodontitis rápidamente progresiva y sobre todo en las zonas sanas, lo que podría indicar un fenómeno de defensa local frente a diferentes noxas agresivas. No hubo cambios significativos a lo largo del estudio en ningún grupo.
- 6.- El infiltrado inflamatorio más intenso lo encontramos en el conectivo subyacente al epitelio de la bolsa y en el conectivo profundo.
- 7.- Con el tratamiento el infiltrado inflamatorio disminuye en las dos periodontitis, alcanzándose en el primer mantenimiento (3 meses) los niveles más bajos, para en el segundo (6 meses) producirse una ligera recidiva, no significativa, que coincide con el aumento del sangrado y aumento en la profundidad de sondaje en ambos grupos.
- 8.- Encontramos en las dos periodontitis un predominio de linfocitos T sobre los B. Los linfocitos T se localizan fundamentalmente y antes del tratamiento en el epitelio de la bolsa y en el corion profundo en ambos grupos, para después del tratamiento situarse en el epitelio oral y corion superficial. En valores absolutos disminuyen de manera importante en las dos periodontitis después del tratamiento, siendo estadísticamente significativo en la periodontitis crónica del adulto. Pero en valores relativos los linfocitos T aumentan.

9.- Los valores de T4 / T8 fueron de 2,66 para la periodontitis crónica del adulto y 2,99 para la periodontitis rápidamente progresiva que tras el tratamiento desciende a 0,95.

10.- Antes del tratamiento encontramos mayor número de células Natural-Killer en la periodontitis rápidamente progresiva, desapareciendo después del mismo en ambos grupos.

11.- El número de células de Langerhans es superior en la periodontitis rápidamente progresiva antes del tratamiento. En los dos grupos se produce una disminución postratamiento, para aumentar en el sexto mes y de forma más importante en la periodontitis rápidamente progresiva.

12.- El grupo de macrófagos y linfocitos activados se encuentra más elevado en la periodontitis rápidamente progresiva produciéndose un descenso significativo en ambos grupos tras el tratamiento. Para producirse un aumento significativo en el sexto mes en la periodontitis rápidamente progresiva.

13.- Podemos definir, según nuestra investigación, ambas lesiones inflamatorias antes del tratamiento como periodontitis con predominio de linfocitos T, que se hace más intenso después del tratamiento, aunque en el segundo mantenimiento se produce un aumento importante de Células de Langerhans, macrófagos y linfocitos activados, coincidiendo además con aumento en el sangrado, infiltrado inflamatorio y ligero aumento en la profundidad de sondaje, sin pérdida de inserción. Con lo que estaríamos en este momento ante una gingivitis sobre una periodontitis ya tratada.

7. BILIOGRAFIA

1. Scherp H. Current concepts in periodontal research: Epidemiological contributions. *J Am Dent Assoc* 1964; 68:667-675.
2. Russell A L. Epidemiology of periodontal disease. *Int Dent J* 1967; 19:282-296.
3. Löe H, Anerud A, Boysen H, Smith M. The natural history of periodontal disease in man. The rate of periodontal destruction before 40 years of age. *J Periodontol* 1978; 49:607-620.
4. Socransky S S, Haffajee A D, Goodson J M, Lindhe J. New concepts of destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1984; 11:21-32.
5. Goodson J M, Tanner A C R, Haffajee A D, Sornberger G C, Socransky SS. Patterns of progression and regression of advanced destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1982; 9:472-481.
6. Haffajee A D, Socransky S S, Ebersole J L, Smith D J. Clinical, microbiological and immunological features associated with the treatment of active periodontosis lesions. *J Clin Periodontol* 1984; 11:600-618.
7. Haffajee A D, Socransky S S, Goodson J M. Clinical parameters as predictors of destructive periodontal disease activity. *J Clin Periodontol* 1986; 10:257-265.
8. Fine D H, Mandel I D. Indicators of periodontal disease activity: An evaluation. *J Clin Periodontol* 1986; 13:533-546.
9. Johnson N W. Detection of high-risk groups and individuals for periodontal diseases. *Int Dent J* 1989; 39:33-47.
10. Bowers, G M: A study of the width of attached gingiva. *J Periodontol* 1963; 34:201.
11. Ainamo, J, and Talari, A.: The increase with age of the width of attached gingiva. *J Periodont Res* 1976; 11:182.
12. Ainamo, A, Ainamo, J, and Poikkeus, R.: Continuous widening of the band of attached gingiva from 23 to 65 years of age. *J Periodont Res* 1981; 16:595.
13. Cooper, P G, Caton, J G, and Polson, A M: Cell populations associated with gingival bleeding. *J Clin Periodontol* 1986; 54:497.

14. Thilo, B E, Caton, J G, Polson, A M, and Espeland, M A: Cell populations associated with interdental gingival bleeding. *J Clin Periodontol* 1986; 13:324.
15. Löe, H, and Holm-Pedersen, P: Absence and presence of fluid from normal and inflamed gingivae. *Periodontics* 1965; 3:171.
16. Theilade E, Wright W H, Jensen S B, and Löe H: Experimental gingivitis in man. II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. *J Periodont Res* 1966; 1:1.
17. Socransky S S, Manganiello A D, Propas D, Oram V, and van-Houte J: Bacteriological studies of developing supragingival dental plaque. *J Periodont Res* 1977; 12:90.
18. Slots J: Microflora in the healthy gingival sulcus in man. *Scand J Dent Res* 1977; 85:247.
19. Newman M G, Grinenco V, Weiner M, Angel I, Karge H, and Nisengard R.: Predominant microbiota associated with periodontal health in the aged. *J Periodontol* 1978; 49:553.
20. Glossary of Periodontic Terms. *J Periodontol* 1986; 57 (Suppl.).
21. Page R C: Gingivitis. *J Clin Periodontol* 1986; 13:345.
22. Page R C, and Schroeder H E: Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest* 1976; 4:235.
23. Löe H, Theilade, E, and Jensen S B: Experimental gingivitis in man. *J Periodontol* 1965; 36:177.
24. Schroeder H E, Graf-de-Beer M, and Attstrom R: Initial gingivitis in dogs. *J Periodont Res* 1975; 10:128.
25. Schroeder H E, Munzel-Pedrazzoli S, and Page R C: Correlated morphometric and biochemical analysis of gingival tissue in early chronic gingivitis in man. *Arch Oral Biol* 1976; 18:899.
26. Seymour G J, Powell R N., and Aitken J F, Experimental gingivitis in humans. A clinical and histologic investigation. *J Periodontol* 1983; 54:522.

27. Seymour G J, Powell R N, Cole K L, et al.: Experimental gingivitis in humans. A histochemical and immunological characterization of the lymphoid cell subpopulations. *J Periodont Res* 1983; 18:375.
28. Lindhe J, Hamp S-E., and Löe H: Experimental periodontitis in the beagle dog. *J Periodont Res* 1973; 8:1.
29. Okada H, Kida T, and Yamagami H: Identification and distribution of immunocompetent cells in inflamed gingiva of human chronic periodontitis. *Infect and Immun* 1983; 41:365.
30. Schroeder H E, and Lindhe J: Conversion of stable established gingivitis in the dog into destructive periodontitis. *Arch Oral Biol* 1975; 20:775.
31. Seymour G J, Powell R N, and Davies W I R: Conversion of a stable T-cell lesion to a progressive B-cell lesion in the pathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease: An Hypothesis. *J Clin Periodontol* 1979; 6:267.
32. Page R C, and Schroeder H: Periodontitis in Man and Other Animals. A Comparative Review. Basel, Switzerland: S. Karger, 1982.
33. Saglie F R, Carranza Jr. F A, Newman M G, Cheng L, and Lewin K J: Identification of tissue-invading bacteria in human periodontal disease. *J periodont Res* 1982; 17:452.
34. Saglie F R, Newman M G, Carranza Jr. F A, and Pattison G L: Bacterial invasion of gingiva in advanced periodontitis in humans. *J Periodontol* 1982; 53:217.
35. Carranza Jr. F A, Saglie R, Newman M G, and Valentin P L: Scanning and transmission electron microscopic study of tissue-invading microorganisms in localized juvenile periodontitis. *J Periodontol* 1984; 54:598.
36. Listgarten M A: Pathogenesis of periodontitis. *J Clin Periodontol* 1986; 13:418.
37. Brex M C, Frölicher I, Gehr P and Lang N P. Stereological observations on long term experimental gingivitis in man. *J Clin Periodontol* 1988; 15:621-627.
38. Brex M, Gautchi M, Gerh P and Lang N. Variability of histologic criteria in clinically healthy human gingiva. *J Periodont Res* 1987; 22:468-472.
39. Brex M C, Schlegel K, Gerh P and Lang N P. Comparison between histological and clinical parameters during human experimental gingivitis. *J Periodont Res* 1987; 22:50-57.

40. Brex M, Nuki K, Lang N P, Gestach A, and Solberger K. Microvascular volumes in healthy and inflamed gingiva in man. *J Periodont Res*, 1992; 27:1-7.
41. Zappa U, Simona C, Schäppi P, Graf H, and Espeland M. Episodic probing attachment loss in humans: histologic associations. *J Periodontol* 1990; 61:420-426.
42. Zappa U, Reinking-Zappa M, Graf H, and Espeland M. Cell populations and episodic periodontal attachment loss in humans. *J Clin Periodontol* 1991; 18:508-515.
43. Zappa U, Reinking-Zappa M, Graf H, and Case D. Cell populations associated with active probing attachment loss. *J Periodontol* 1992b; 63:748-752.
44. Zappa U, Boretti G, Graf H, and Case D. Numbers and vialityof leukocytes in pocket washings of untreated periodontitis lesions in humans utilizing a novel intracrevicular lavage technique. *J Periodont Res* 1992 a.
45. Moskow B S, and Polson A M. Histologic studies on the extension of the inflammatory infiltrate in human periodontitis. *J Clin Periodontol* 1991; 18:534-542.
46. Nevins M, Becker C W, and Kornman K. *Procedings of the world workshop in clinical periodontics*. Pricetown, New Yersey. 1989.
47. Lang N P, Karring T. *Procedings of the 1st european workshop on periodontology*. Switzerland 1993.
48. Johnson G S, Griffiths G S, Wilton J M A, Maiden M F J, Curtis M A, Gillet I R, Wilson D T, and Sterne J A C. Detection of high-risk groups and individuals for periodontal diseases. Evidence for the existence of high-risk groups and individuals and approaches to their detection. *J Clin Periodont* 1988; 15:276-282.
49. Wilton J M A, Griffiths G S, Curtis M A, Maiden M F J, Gillet I R, Wilson D T, Sterne J A C, and Johnson N W. Detection of high-risk groups and individuals for periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1988; 15:339-346.
50. Griffiths G S, Wilton J A M, Curtis M A, Maiden M F J, Gillet I R, Wilson D T, Sterne J A C and Johnson N W: Detection of high-risk groups and individuals for periodontal diseases. Clinical assessment of the periodontium. *J Clin Periodontol* 1988; 15:403-410.

51. Curtis M A, Gillet I R, Griffiths G S, Maiden M F J, Sterne J A C, Wilson D T, Wilton J M A and Johnson N W: Detection of high-risk groups and individuals for periodontal disease: Laboratory markers from analysis of gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 1989; 16:1-11.
52. Wilton J M A, Curtis M A, Gillet G S, Maiden M F J, Sterne J A c, Wilson D T and Johnson N W: Detection of high-risk groups and individuals for periodontal diseases: laboratory markers from analysis of saliva. *J Clin Periodontol* 1989; 16:475-483.
53. Maiden M F J, Carman R J, Curtis M A, Gillet I R, Griffiths G S, Sterne J A C, Wilton J M A and Johnson N w:Detection of high-risk groups and individuals for periodontal diseases: laboratory markers based on the microbiological analysis of subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1990; 17:1-13.
54. Löe H, Anerud A, Boysen H and Morrison E: Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age. *J Clin Periodontol* 1986; 13:431-440.
55. Anerud K E, Robertson P B, Löe H, Anerud H, Boysen H and Patters M R. Periodontal disease in three young adult populations. *J Periodont Res* 1983; 18:655-668.
56. Cutress T W. Periodontal health and periodontal disease in young people: global epidemiology. *Inter Dent J* 1986; 36:146-151.
57. Genco R J, Lars A, Christensson A and Zambon J J. Juvenile Periodontitis. *Inter Dent J* 1986; 36:168-176.
58. Loesche W J. Ecology of the oral flora. En: Newman M G, and Nissengard R. Ed. *Oral microbiology and immunology* . W. C. Saunders 1988; 351-356.
59. Gibbons R J, and van Houte J. On the formation of dental plaque. *J Periodont* 1973; 44:347.
60. Kenney E B, and Ash M M. Oxidation reduction potential of developing plaque, periodontal pockets and gingival sulci. *J Periodont* 1969; 40:630.
61. Kornman K S, and Loesche W J. Effects of estradiol and progesterone on *Bacteroides melaninogenicus* and *Bacteroides gingivalis*. *Infect Immun* 1982; 35:256.

62. Sanz M, Newman M G. Dental plaque and calculus. En: Newman M G, and Nissengard R. Ed. *Oral microbiology and immunology* . W C Saunders 1988; 367-388.
63. Ramfjord S P,. The periodontal status of boys 11-17 years old in Bombay, India. *J Periodontol* 1961; 32:237.
64. Jordan H V, and Keyes P H. Aerobic gram positive filamentous bacteria as etiologic agent of experimental periodontal disease in hamsters. *Arch Oral Biol* 1964; 9:401.
65. Ramfjord S P, Knowles J W, Nissle R R, Schick R A, and Burgett F C. Longitudinal study of periodontal therapy. *J Periodontol* 1973; 46:66.
66. Lindhe J, and . Nyman S. Long-term maintenance of patiens trested for advanced periodontal disease. *J Periodontol* 1984; 11:504.
67. Olsson J, Glantz P O, and Krasse B. Surface potential and adherence of oral streptococci to solid surfaces. *Scand. J Dent Res* 1976; 84:240.
68. Moore W E, Holdeman L V, Smibert R M, Good I J, Burmeister J A, Palcanis K, and Ranney R R. Bacteriology of experimental gingivitis in young adult humans. *Infect Immun* 1982; 38:651.
69. Loesche W J, and Syed S A. The bacteriology of human experimental gingivitis. *Infect Immun* 1978; 21:830.
70. Theilade J. Development of bacterial plaque in the oral cavity. *J Clin Periodontol* 1977; 4 (extra issue No. 5):1.
71. Listgarten M A. Structure of the microbial flora associated with periodontal health and disease in man. A light and electron microscope study. *J Periodontol* 1976; 47:1.
72. Listgarten M A, and Ellegard B. Electron microscopic evidence of a cellular attachment between junctional epithelium and dental calculus. *J Periodont Res* 1973; 8:143.
73. Egelberg J. Local effect of diet on plaque formation and development on gingivitis in dogs. *Odontologysk Revy* 1965; 16:31.
74. Socransky S S, Gibbons R J, Dale A C, Bortnick L, Rosenthal E, and McDonald J b. The microbiota of the gingival crevice in man. *Arch Oral Biol* 1963; 8:275.



75. Sanz M, Herrera I, Bascones A, Newman M G, and Saglie R. Association of bacterial invasion with the advancing front of the periodontitis lesion. *J Dent Res* 1986; 65, Spec Iss. AADR A#116.
76. Newman H N. Ultrastructure of the apical border of dental plaque. In Lehner, T (ed): *The Bordeland Between Caries and Periodontal Disease*. Academic Press, London 1977; 78-103.
77. Listgarten M A, Mayo H, and Amsterdam M. Ultrastructure of the attachment device between coccal and filamentous microorganisms in corn cob formations in dental plaque. *Arch Oral Biol* 1973; 8:651.
78. Listgarten M A, Mayo H, and Tremblay R. Development of dental plaque on epoxyresin crowns in man. A light and electron microscope study. *J Periodontol* 1975; 46:10.
79. Socransky SS, Haffajee AD, Smith GFL, Dzink JL. Difficulties encountered in the search for the etiologic agents of destructive periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1987; 14:588-593.
80. Socransky S S, Haffajee A D. Microbiological risk factors for destructive periodontal diseases, In: Bader J D, ed. *Risk Assessment in Dentistry*. Chapel Hill: University of North Carolina Dental Ecology; 1990:79-90.
81. Socransky S S, Haffajee A D, Listgarten M A. Microbiology (plaque). In: Grant D A, Stern I B, Listgarten M A, eds. *Periodontics*, 6th ed. San Louis: C.V. Mosby; 1987:147-197.
82. Listgarten MA. Electron microscopic observations of the bacterial flora of acute necrotizing ulcerative gingivitis. *J Periodontol* 1965; 36:328-339.
83. Listgarten MA, Socransky SS. Ultrastructural characteristics of a spirochete in lesions of acute necrotizing ulcerative gingivostomatitis (Vincent's infection). *Arch Oral Biol* 1964; 9:95-96.
84. Theilade E. The non-specific theory in microbial etiology of inflammatory periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1986; 13:905-911.
85. Socransky S S. Microbiology of periodontal disease- present status and future considerations. *J Clin Periodontol* 1977; 48:497-504.

86. Socransky S S. Criteria for the infectious agents in dental caries and periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1979; 6 n° 7 extra issue, 16-21.
87. Socransky S S, Tanner A C R, Haffajee A D, Hillman J D, and Goodson J M. Present status of studies on the microbial etiology of periodontal diseases. In *Host-parasite interactions in periodontal diseases*, eds. Genco R J and Mergenhagen S E, 1982; 1-12.
88. Van Palenstein Helderman W H. Microbial etiology of periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1981; 20:131-145.
89. Listgarten M A, and Hellden L. Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontally disased sites in humans. *J Clin Periodontol* 1978; 5:115-132.
90. Slots J and Genco R J. Black-pigmented *Bacteroides* species, *Capnocytophaga* species, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease: virulence factors in colonization, survival and tissue destruction. *J Den Res* 1984; 63:412-421.
91. Newman MG, Socransky SS. Predominant cultivable microbiota in periodontosis. *J Periodont Res* 1976; 12:120-128.
92. Slots J. The predominant cultivable organisms in juvenile periodontitis. *Scand J Dent Res* 1976; 84:1-10.
93. Newman MG, Socransky SS, Savitt ED, Propas DA, Crawford A. Studies of the microbiology of periodontosis. *J Periodontol* 1976; 47:373-379.
94. Socransky S S, and Haffajee A D. Current concepts of bacterial etiology. *J Periodontol* 1992; 322.
95. Kornmam KS, Holt SC, Robertson PB. The microbiology of ligature-induced periodontitis in the cynomologus monkey. *J Periodont Res* 1981; 16:363-371.
96. Kornman KS, Siegrist B, Soskolne Wa, Nuki K. The predominant cultivable subgingival flora of beagle dogs following ligature placement and metronizadole therapy. *J Periodont Res* 1981; 16:251-258.
97. Holt SC, Ebersole J, Felton J, Brunsvold M, Kornman KS. Implantation of *Bacteroides gingivalis* in nonhuman primates initiates progrssion of periodontitis. *Science* 1988; 239:55-57.

98. Gómez de la Concha E. Introducción al sistema inmune. *MEDICINE Inmunología (I)* (4ª edic.) 1987; 97:13-18.
99. Gómez de la Concha E, Viñuela J E, y Gil Herrera J. Bases celulares de la respuesta inmune. *MEDICINE Inmunología (I)* (4ª edic.) 1987; 97:19-36.
100. Tratado de Alergología e Inmunología Clínica . Tomo I. Inmunología general (1ª edic.) Sociedad Española de Alergología e Inmunología clínica. 1986.
101. Genco R J. Current concepts of host response. *J Periodontol* 1992; 338.
102. Meyle J. Leukocyte adhesion deficiency and prepubertal periodontitis. *Periodontology* 2000 1994; vol. 6:26-36.
103. Page R C. Risk factors involving host defense mechanisms. En Baker J D. Risk Assessment In Dentistry. Proceedings Of A Conference 1989 June 2-3. Chapel Hill: University of North Carolina Dental Ecology, 1990:94-104.
104. Cianciola L J, Genco R J, Patters M R, McKenna J, Van Oss C J. Defective polymorphonuclear leukocyte function in human periodontal disease. *Nature* (London) 1977; 265:653-660.
105. Clark R A, Page R C, Wilde G. Defective neutrophil chemotaxis in juvenile periodontitis. *Infect Immun* 1977; 18:694-700.
106. Van Dyke T E, Horoszewicz H U, Cianciola L J, Genco R J. Neutrophil chemotaxis dysfunction in human periodontitis. *Infect Immun* 1980; 27:124-132.
107. Waldrop T C, Anderson D C, Hallmon W W, Schmalsteig F C, Jacobs R L. Periodontal manifestations of the heritable Mac-1, LFA-1, deficiency syndrome. Clinical histopathologic and molecular characteristics. *J Periodontol* 1987; 58:400-416.
108. Tew J G, Miller G A, Greene E J, et al. Immunological studies of young adults with severe periodontitis. *J Periodont Res* 1981; 16:403-416.
109. Van Dyke T E, Levine M J, Genco R J. Neutrophil function and oral disease. *J Oral Pathol* 1985; 14:95-120.
110. Patters M R, Murray P A. Gingival crevice neutrophil function in periodontal lesions. *J Periodont Res* 1980; 15: 463-469.

111. Cogen R B, Roseman J M, Al-Foburi W, et al. Host factors in juvenile periodontitis. *J Dent Res* 1986; 65:394-399.
112. Suzuki J B, Collison B C, Falker W A, Nauman R K. Immunologic profile of juvenile periodontitis II. Neutrophil chemotaxis, phagocytosis, and spore germination. *J Periodontol* 1984; 55:461-467.
113. Van Dyke T E, Zinney W, Winkel K, Tauriq A, Offenbacher S, Arnold R R. Neutrophil function in localized juvenile periodontitis: phagocytosis, superoxide production and specific granule release. *J Periodontol* 1986; 57:703-708.
114. Ellegaard B, Borregaard N, Ellegaard J. Neutrophil chemotaxis and phagocytosis in juvenile periodontitis. *J Periodont Res* 1984; 19:261-268.
115. Tew J G, Burmeister J A, Palcanis K G, Ranney R R. Spontaneous lymphocyte proliferation and periodontal status of young adults. *J Periodont Res* 1983; 18:534-540.
116. Genco R J, Van Dyke T E, Levine M J, Nelson R D, Wilson M E. Molecular factors influencing neutrophil defects in periodontal disease. *J Dent Res* 1986; 65:1379-1391.
117. Tolefson T, Saltvedt E, Stromme-Koppang H. The effect of immunosuppressive agents on periodontal disease in man. *J Periodont Res* 1978; 13:240-250.
118. Oshrain H I, Mender S, Mandel I D. Periodontal status of patients with reduced immunocapacity. *J Periodontol* 1979; 50:185-188.
119. Robertson P B, Mackler B F, Wright T E III, Levy B M. Periodontal status of patients with abnormalities of the immune system II. Observations over a 2-year period. *J Periodontol* 1980; 51:70-73.
120. Seymour G J, Boyatzis S, Powell R N. The autologous mixed lymphocyte reaction (AMLR) as a possible indicator of immunoregulation in chronic inflammatory periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1986; 13:639-645.
121. Suzuki J B, Park S K, Falker W A. Immunologic profile of juvenile periodontitis I. Lymphocyte blastogenesis and the autologous mixed lymphocyte response. *J Periodontol* 1984; 55: 453-460.

122. Suzuki J B, Risom L, Falker W A, Collison C, Gowers G. Effect of periodontal therapy on spontaneous lymphocyte response and neutrophil chemotaxis in localized and generalized juvenile periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 1985; 12:124-134.
123. McAnulty K, Stone R, Hastings G, Clagett J, Engel D. Immunoregulation in severe generalized periodontitis. *Clin Immunol Immunopathol* 1985; 34:84-93.
124. Tew J, Engel D, Mangan D. Polyclonal B-cell activation in periodontitis. *J Periodont Res* 1989; 24: 225-241.
125. Gunsolley J C, Burmeister J A, Tew J G, Best A M, Ranney R R. Relationship of serum antibody to attachment level patterns in young adults with juvenile periodontitis or generalized severe periodontitis. *J Periodontol* 1987; 58: 314-320.
126. Mackler B F, Frostad K B, Robertson R B, Levy B M. Immunoglobulin-bearing lymphocytes and plasma cells in human periodontal disease. Lymphoid cells in periodontal disease. *J Periodont Res* 1977; 12:37-45.
127. Seymour G J, Crouch M S, Powell R N, et al. The identification of lymphoid cell subpopulations in sections of human lymphoid tissue in gingivitis in children using monoclonal antibodies. *J Periodont Res* 1982; 17:247-256.
128. Stouffi E D, Taubman M A, Ebersole J L, Smith D J, Stashenko P P. Phenotypic analysis of mononuclear cells recovered from healthy and diseased periodontal tissues. *J Clin Immunol* 1987; 7:235-245.
129. Johannessen A C, Nielsen R, Kristoffersen T, Knudsen G E. Variation in the composition of gingival inflammatory cell infiltrates. *J Clin Periodontol* 1990; 17:298-305.
130. Okada H, Kida T, Yamagami H. Characterization of the immunocompetent cells in human advanced periodontitis. *J Periodont Res* 1982; 17:472-473.
131. Taubman M A, Stouffi E D, Ebersole J L, Smith D J. Phenotypic studies of cells from periodontally diseased tissues. *J Periodont Res* 1984; 19:587-590.
132. Genco R J, Slots J. Host responses in periodontal diseases. *J Dent Res* 1984; 63:441-451.
133. Ebersole J L. Systemic humoral immune response in periodontal disease. *Cri Rev Oral Biol Med* 1990; 1:283-331.

134. Lehner T, Wilton J M A, Ivani L, Manson J D. Immunological aspects of juvenile periodontitis (periodontosis). *J Periodont Res* 1974; 9:261-272.
135. DeNardin A M, Sojar H T, Grossi S G, Christersson L A, Genco R J. Humoral immunity of older adults with periodontal disease to *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun* 1991; 59:4363-4370.
136. Powell J, Alexander D, Smales F. Crevicular fluid (CF) IgG subclasses in health and periodontitis. *J Dent Res* 1991; 70(Spec Issue):353(Abstr. 700).
137. Charon J A, Luger T A, MErgenhagen S E, Oppenheim J J. Increased thymocyte activating factor in human gingival fluid during gingival inflammation. *Infect Immun* 1982; 38:1190-1195.
138. Mergenhagen S E. Thymocyte activating factor(s) in human gingival fluids. *J Dent Res* 1984; 63:461-464.
139. Jandinski J J, Stashenko P, Feder L S et al. Localization of interleukin-1 β in human periodontal tissue. *J Periodontol* 1991; 62:36-43.
140. Hönig J, Rordorf-Adam C, Siegmund C, Wiedemann W, Erard F. Interleukin-1 β (IL-1 β) concentration in gingival tissue from periodontitis patients and healthy control subjects. *J Periodont Res* 1989; 24:362-367.
141. Masada M P, Persson R, Kenney J S, Lee S W, Page R C, Allison A C. Measurement of interleukin-1 α and 1 β in gingival crevicular fluid: Implications for pathogenesis of periodontal disease. *J Periodont Res* 1990; 25:156-163.
142. Richards D, Rutherford R B. Interleukin-1 regulation of procollagenase messenger RNA and protein in periodontal fibroblasts in vitro. *J Periodont Res* 1990; 25:222-229.
143. Offenbacher S, Farr D H, Goodson J M. Measurement of prostaglandin E in crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 1981; 8:319-327.
144. Offenbacher S, Odle B M, VanDyke T E. The use of crevicular fluid prostaglandin E levels as a predictor of periodontal attachment loss. *J Periodont Res* 1986; 21:101-112.
145. Schenkein H A, Genco R J. Gingival fluid and serum in periodontal diseases: I. Quantitative study of immunoglobulins, complement components, and other plasma proteins. *J Periodontol* 1977; 48:772-777.

146. Schenkein H A, Genco R J. Gingival fluid and serum in periodontal diseases: II. Evidence for cleavage of complement components C3, C3 proactivator (factor B), and C4 in gingival fluid. *J Periodontol* 1977; 48:778-784.
147. Tollefsen T, Saltvedt E. Comparative analytic analysis of gingival fluid and plasma by crossed immunoelectrophoresis. *J Periodont Res* 1980; 15:96-106.
148. Niekrash C E, Patters M R. Simultaneous assessment of complement component, C3, C4 and B and their cleavage products in human gingival fluid. II. Longitudinal changes during periodontal therapy. *J Periodont Res* 1985; 20:268-275.
149. Schenkein H A, Cianciola L, Genco R J. Complement activation in gingival pocket fluid from patients with periodontosis and severe periodontitis. *J Dent Res* 1976; 55(Spec. Issue B): 207(Abstr. 581).
150. Niekrash C E, Patters M R, Lang N P. Relationship of complement cleavage in gingival fluid to periodontal diseases. *J Periodont Res* 1984; 19:622-627.
151. Page R C, Altman L C, Ebersole J L, Vandesteen G E, Dahlberg W H, Williams B L, Osterberg S K. Rapidly Progressive Periodontitis. A distinct clinical condition. *J Periodontol* 1982; 197-209.
152. Manson J D, and Lehner T. Clinical features of juvenile periodontitis (periodontosis). *J Periodontol* 1974; 45:636.
153. Gibbs C H, Hirschfeld J W, Lee J G, Low S B, Magnusson I, Thousand R R, Yerneni P and Clark W B. Description and clinical evaluation of a new computerized periodontal probe - the Florida Probe. *J Clin Periodontol* 1988; 15:137-144.
154. Caton J, Greenstein G and Polson A M. Depth of periodontal probe penetration related to clinical and histologic signs of gingival inflammation. *J Periodontol* 1981; 52:626-629.
155. Borsboom P C F, ten Bosch J J, Corba N H, and Tromp J A H. A simple constant-force pocket probe. *J Periodontol* 1981; 52:390-391.
156. Badersten A, Nilvéus R and Egelberg J. Reproducibility of probing attachment level measurements. *J Clin Periodontol* 1984; 11:475-485.

157. Abbas F, Hart A A M, Oosting J, and Van der Velden U. Effect of training and probing force on the reproducibility of pocket depth measurements. *J Periodont Res* 1982; 17:226-234.
158. Chamberlain A D H, Renvert S, Garret S, Nilveus R, and Egelberg J. Significance of probing force for evaluation of healing following periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 1985; 12:306-311.
159. Freed K H, Gapper R L, and Kalkwarf K L. Evaluation of Periodontal Probing Forces. *J Periodontol* 1983; 54:488-492.
160. Kalkwarf K L, Kaldahl W B, and Patil K D. Comparison of manual and pressurecontrolled periodontal probing. *J Periodontol* 1986; 57:467-471.
161. Listgarten M A, Mao R, and Robinson P J. Periodontal probing and the relationship of the probe tip to periodontal tissues. *J Periodontol* 1976; 47: 511-513.
162. Magnusson I and Listgarten M A. Histological evaluation of probing depth following periodontal treatment. *J Clin Periodontol* 1980; 7:26-31.
163. Mombelli A and Graf H. Depth-force-patterns in periodontal probing. *J Clin Periodontol* 1986; 13:126-130.
164. Polson A M, Caton J G, Yeaple R N, and Zander H A. Histologic determination of probe tip penetration into the gingival sulcus of humans using an electronic pressure sensitive probe. *J Clin Periodontol* 1980; 7: 479-488.
165. Proye M, Caton J, and Polson A. Initial Healing of Periodontal Pockets after a single episode of root planing monitored by controlled probing forces. *J Periodontol* 1981; 53:296-301.
166. Robinson P J, and Vitek R M. The relationship between gingival inflammation and resistance to probe penetration. *J Clin Periodontol* 1979; 14:239-243.
167. Spray J R, Garnick J J, Doles L R, and Klawitter J. Microscopic demonstration of the position of periodontal probes. *J Periodontol* 1978; 49:148-152.
168. Magnusson J, Fuller W W, Heins P J, Rau C F, Gibbs C H, Marks R G, and Clark W B. Correlation between electronic and visual readings of pocket depths with a newly developed constant force probe. *J Clin Periodontol* 1988; 15:180-184.

169. Listgarten M A. Periodontal probing what does it mean? *J Clin Periodontol* 1980; 7:165-176.
170. Magnusson I, Clark W B, Mrks R G, Gibbs C H, Manouchehr-Pour M, and Low S B. Attachment level measurements with a constant force electronic probe. *J Clin Periodontol* 1988; 15:185-188.
171. Van der Velden U. Probing force and the relationship of the probe to the periodontal tissues. *J Clin Periodontol* 1979; 6:106-114.
172. Van der Velden U, and de Vries J H. Introduction of a new periodontal probe. The pressure probe. *J Clin Periodontol* 1978; 5:188-197.
173. Greenstein G, Caton J, and Polson A M. Histologic characteristics associated with bleeding after probing and visual signs of inflammation. *J Periodontol* 1981; 52:420-425.
174. Wasserman B, and Hirschfeld L. The relationship of initial clinical parameters to the long-term response in 112 cases of periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1988; 15:38-42.
175. Hausmann E, and Jeffcoat M. A perspective on periodontal disease activity measurements. *J Clin Periodontol* 1988; 15:134-136.
176. Cohen M E, and Ralls S A. False positive rates in the determination of changes in probing depth-related periodontal measurements. *J Periodont Res* 1988; 23:161-165.
177. Fleiss J L, Wallenstein S, Chilton N W, and Goodson J M. A re-examination of within-mouth correlations of attachment level and of change in attachment level. *J Clin Periodontol* 1988; 15:411-414.
178. Papapanou P N, and Wennström J L. A 10-year retrospective study of periodontal disease progression. Clinical characteristics of subjects with pronounced and minimal disease development. *J Clin Periodontol* 1990; 17:78-84.
179. Greenstein G. Advances in Periodontal Disease Diagnostic. *Int J Periodont Res Dent* 1990; 10:351-371.

180. Manual of histologic staining methods. 3 ed. Ed. Lee G, Luna H T (ASCP). The Blakinston Division. Mc Graw-Hill Company Washinton (E.V.A.) 1968.
181. Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fuses cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975; 256:495-497.
182. Nakane P K, Pierce G B Jr. Enzyme-labeled antibodies: preparation and application for the localization of antigen. *J Histochem Cytochem* 1966; 14:929-931.
183. Mackler B F, Frostad K B, Roberson P B, and Ley B M. Immunoglobulin bearing lymphocytes and plasma-cells in human periodontal disease. *J Periodont Res* 1977; 12:37-45.
184. Mackler B F, Waldrop T C, Schur P, Roberson P B, and Ley B M. IgG subclasses in human periodontal disease I. Distribution and incidence of igG subclass bearing lymphocytes and plasma cells. *J Periodont Res* 1978; 13:109-119.
185. Longhurst P, Johnson N W. and Hopps R M. Differences in lymphocyte and plasma cells densities in inflamed gingiva from adults and young children. *J Periodont* 1977; 48:705-710.
186. Alcoforado G A P, Kristoffersen T, Johannesen A C, and Nilsen R. The composition of gingival inflammatory cell infiltrates in children studied by enzyme histochemistry. *J Clin Periodont* 1990; 17:335-340.
187. Çelenligil H, Kansu E, Ruacan S, Eratalay K, and Çaglanya G. Immunohistological analisys of gingival lymphocytes in adult periodontitis. *J Clin Periodont* 1990; 17: 542-548.
188. Meng H X, and Zheng L F. T cells and T-cell subsets in periodontal disease. *J Periodont Res* 1989; 24:121-126.
189. Stashenko P, Rwamini L M, Haffajee A D, et al. Helper and suppressor T cells in periodontal disease. *J Periodont* 1985; 20:515.
190. Kiname D F, Johnston F A, Evans Cw. Depressed helper-to-suppressor T-cell ratios in early-onset forms of periodontal disease. *J Periodont Res* 1989; 24:161-164.
191. Çelenligil H, Kansu E and Eratalay K. Juvenile and rapidly progressive periodontitis. Peripheral blood lymphocyte subpopulations. *J Clin Periodontol* 1990; 17:207-210.

192. Katz J, Goulschin J, Benoliel R and Schlesinger M. Peripheral T lymphocyte subsets in rapidly progressive periodontitis. *J Clin Periodontol* 1988; 15:266-268.
193. Okada H, Kassai Y, and Kida T. T lymphocyte subsets in the inflamed gingiva of human adult periodontitis. *J Periodont Res* 1984; 19:595-598.
194. Cobb C M, Singla O, Feil P H, Theisen F C, Shultz R E. Comparison of NK-cell (Leu-7+ and Leu-11b+) populations in clinically healthy gingiva, chronic gingivitis and chronic adult periodontitis. *J Periodont Res* 1989; 24:1-7.
195. Koop W. Density and localization of lymphocytes with natural killer (NK) cell activity in periodontal biopsy specimens from patients with severe periodontitis. *Lin Periodontol* 15:595-600.
196. Wynne S E, Walsh L J, Seymour G J. In situ demonstration of natural killer (NK) cells in human gingival tissue. *J Periodontol* 1986; 57:699-702.
197. Krishnaraj R, Blandford G. Age-associated alterations in human natural killer cells. *Cell Immun* 1988; 114:137-148.
198. Newcomb G M, Seymour G J, Powell R N. Association between plaque accumulation and Langerhans cell numbers in the oral epithelium of attached gingiva. *J Clin Periodontol* 1982; 9:297-304.
199. Gibofsky A, Ko, H. S. and Kunkel, H. G. Peripheral blood Ia-positive T cells. Increases in certain diseases and after immunization. *J Experimental Medicine* 1980; 151:91-100.
200. Kim K H, Shivdasani R A, and Thomas D W. Two rules for Ia in antigen-specific T lymphocyte activation. *J Immun* 1986; 137:3393-3400.
201. Hemler M E, Brenner M B, McLean J M, and Strominger J L. Antigenic stimulation regulates the level of expression of interleukin-2 receptor on human T cells. *Proceedings of National Academy of Sciences of USA* 1984; 81:2172-2175.
202. Chen P, Park B and Genco R J. Immunologic profile of patients with juvenile periodontitis. *J Dent Res* 1983; 62:273, abstract. 933.